

UNTERSUCHUNGEN ÜBER
ORALE AUTOVACCINEBEHANDLUNG
BEI PATIENTEN MIT
CHRONISCHER POSTTRAUMATISCHER
OSTEOMYELITIS

Petra Urbach

1980

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
im Klinikum Großhadern der Universität München
Direktor: Professor Dr.med. Dr.h.c. W. Brendel

UNTERSUCHUNGEN ÜBER
ORALE AUTOVACCINEBEHANDLUNG
BEI PATIENTEN MIT
CHRONISCHER POSTTRAUMATISCHER OSTEOMYELITIS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Ludwig Maximilians'Universität zu München

vorgelegt von
Petra Urbach
aus Augsburg

MÜNCHEN 1980

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Prof. Dr. J. Seifert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.8.1980



Ein Teil der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit
wurde innerhalb der Schiffsärztlichen
Tagung, 1931, in Leiden (Niederlande) veröffentlicht.
Die vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung
der Untersuchungen von 1929 und 1930.
Es folgt einer ersten Mitteilung von 1929.

Gewidmet

meinen Eltern

in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

A) Einleitung

Ein Teil der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurde innerhalb der Habilitationsschrift von Dr. med. habil. G. Lob bereits publiziert:

"Chronische posttraumatische Osteomyelitis: Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen zu einer oralen antibakteriellen Vaccination."

- 1.1. Anamnese des Patienten
- 1.2. Geschichte des Patienten
- 1.3. Verläufe operativer Eingriffe
- 1.4. Befunde
- 1.5. Feststellungszeit
- 1.6. Zeit der Feststellung des Befundungszeitpunktes
- 1.7. Historische Behandlungsverfahren
2. Experimentelle Untersuchungen
3. Anzahl der Bakterien
4. Experimentelle und klinische Ergebnisse
5. Experimentelle Ergebnisse
6. Klinische Ergebnisse

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A) Einleitung

B) Material und Methoden

1. Patienten
 - 1.1. Einteilung der Patienten
 - 1.2. Alter der Patienten
 - 1.3. Geschlecht der Patienten
 - 1.4. Verletzungslokalisation
 - 1.5. Unfallart
 - 1.6. Verletzungsart
 - 1.7. Zahl der Operationen bis Behandlungsbeginn
mit Vaccine
 - 1.8. Bisherige Behandlungsmethoden
2. Verwendete Materialien
3. Auswahl des Vaccinekeims
4. Keimentnahme und Differenzierung
5. Impfstoffherstellung
6. Keimzählung

7. Sterilitätsprüfung und Toxizitätsprüfung des Impfstoffes
8. Herstellung der Placebos
9. Dosierung und Verabreichung von Autovaccine und Placebo
10. Immunglobulinbestimmung
 - 10.1. Bestimmungsmethode der Immunglobuline G, A, M
 - 10.2. Bestimmungsmethode des Immunglobulin E
11. Methode der Agglutination
 - 11.1. Herstellung der Antigensuspension
 - 11.2. Durchführung der Agglutination
 - 11.3. Bewertungskriterien
12. Bestimmung des Antistaphylolysintiters
13. Statistische Berechnung

C) Ergebnisse
=====

1. Bakteriologische Untersuchungsergebnisse
 - 1.1. Keimverteilung
 - 1.2. Mono- und Mischkulturen
 - 1.3. Keimwechsel während der Vaccinebehandlung

2. Laboruntersuchungen

2.1. Immunglobulinbestimmung

2.1.1. IgG

2.1.2. IgA

2.1.3. IgM

2.1.4. IgE

2.2. AStal-Titer

2.3. Agglutinationstiter

2.4. Elektrophorese

2.5. BKS

2.6. Leukozyten

3. Klinischer Verlauf: Punktebewertung

3.1. Fistelverhältnisse

3.2. Röntgenbefunde

3.3. BKS

4. Nebenwirkungen der Autovaccine

D) Diskussion

E) Zusammenfassung

F) Literatur

A) EINLEITUNG

Die posttraumatische Osteomyelitis ist auch in der heutigen Ära moderner chirurgischer Behandlungsmethoden gefürchtet, vor allem der Übergang in die chronische Form. Letztere ist nach Burri dann erreicht, wenn es nicht gelingt, die Infektion "innerhalb von Wochen zum Abklingen zu bringen".

Bei kaum einer anderen Krankheit dürften so viele verschiedenartige Behandlungsmethoden vorgeschlagen worden sein, wie bei der Osteomyelitis.

Die Therapie der Osteomyelitis läßt sich zurückverfolgen bis in die Zeit der alten Ägypter, die schon die Bedeutung der Immobilisation erkrankter Körperteile erkannten (18). Bei den Römern fand bereits die Herdausräumung ihre Anwendung (89); die erste Spülbehandlung mit Quellwasser fand im 13. Jahrhundert statt (89). Die verschiedenen Methoden reichen von der Glüheisenbehandlung (12), dem Ansetzen von Fliegenlarven (5) und hyperbarer Sauerstoffbehandlung (60; 106) über Schwammeinlagerung in ossäre Defekte (46) und Anwendung von Leberträngips (75), bis hin zur Einlagerung von Spongiosa in ausgeräumte

Knochenhöhlen (81), oder Sandfüllung (120) und Anwendung der Eigenblut-Antibiotikaplombe (11).

Die in den vierziger Jahren beginnende systemische Antibiotikabehandlung erfüllte bezüglich der chronischen Osteomyelitis nicht die erhofften Erwartungen und rückt heute immer mehr in den Hintergrund (64).

Die grundlegende Behandlung der chronischen Osteomyelitis heute geschieht durch radikale chirurgische Ausräumung (70), gegebenenfalls Spül-Saugdrainage (130) und Stabilisierung (31). Prinzipiell hat sich also am Vorgehen bei der Behandlung der chronischen Osteomyelitis nicht viel geändert seit Lexer's Zeit (70).

Über eine besondere Art der Osteomyelitisbehandlung wurde in den dreißiger Jahren diskutiert, vor allem in Frankreich. Delrez und Grégoire (22) berichteten über günstige Ergebnisse durch Vaccineanwendung bei subcutaner oder intramuskulärer Verabreichung. Mouchet und Hallopeau (83) betrachteten die Vaccine als "adjuvant précieux de l'acte chirurgical". Der gleichen Meinung war Robineau (101). Makai (78) empfahl die Autopyotherapie, 1953 berichtete Groß (38) über erfolgreiche Vaccineanwendung, Philipowicz

(88) sah 1934 gute Ergebnisse bei der Behandlung chronischer Osteomyelitiden mit polyvalenter Vaccine.

1936 applizierten Austin und Joyner (4) mit gutem Erfolg Staphylokokkenantitoxin, Baker und Shands (6) berichteten 1939 ebenfalls über ihre Erfahrungen mit Antitoxin. Schick (111) veröffentlichte positive Ergebnisse der Osteomyelitisbehandlung mit "Schick-Vaccine". 1946 dokumentierte Ramon (93) die Gabe von "Anatoxin staphylococcique". Auch das Antisepton Ganslmayer fand in den fünfziger Jahren seine Anwendung (34; 35; 68; 110). Die Autoren berichteten über zurückgehende Fisteleiterungen, Sequesterabstoßung und allgemeine Besserung. Die bei parenteraler Anwendung beobachteten Nebenwirkungen waren starke Fieberreaktionen, allergische Reaktionen, Erythembildung und örtliche Abszeßbildung an der Injektionsstelle, manchmal Nekrosen.

Nicht therapeutisch, sondern prophylaktisch wird Staphylokokkenvaccine "Staphypan" seit 1968 von Liechti und Weber (71) mit Erfolg vor elektiven Knocheneingriffen parenteral eingesetzt.

Da die parenterale Vaccineverabreichung eine Möglichkeit der Beeinflussung der Osteomyelitis darstellt, ist die Frage aufgeworfen, ob dies auch durch enterale Vaccinengabe zu erreichen ist, ohne die für den Patienten unangenehmen starken Nebenwirkungen. Zumindest sollte auf den Versuch einer Beeinflussung der Abwehrlage durch Vaccine nicht verzichtet werden.

Hierholzer schreibt 1966: "Die operativen Maßnahmen und die antibiotische Therapie können nur dann erfolgreich sein, wenn eine ausreichende körpereigene Abwehr vorliegt. Die Forderung nach einer Stimulierung dieser Abwehr ist zwar althergebracht, die Möglichkeiten dazu sollten jedoch wieder mehr beachtet werden" (51).

Über erfolgreiche Zufuhr bakterieller Antigene auf oralem Weg berichteten in letzter Zeit zahlreiche Autoren (21; 36; 27; 25; 55; 57; 72; 95; 112; 116; 117; 121).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Möglichkeit untersucht, durch orale Autovaccinebehandlung Einfluß auf den Verlauf chronischer posttraumatischer Osteomyelitis zu nehmen. Zu diesem Zweck wurde eine Gruppe von 20 Patienten mit Autovaccine behandelt, die oral verab-

reicht wurde, eine Kontrollgruppe von 10 Patienten erhielt zum Vergleich Placebopräparate. Die Patienten nahmen den aus ihren jeweils autologen Keimen hergestellten Schluckimpfstoff bzw. Placebo acht Wochen lang täglich ein.

Vor, während und nach Vaccine/Placebogabe wurden an den Patienten regelmäßig klinische Untersuchungen vorgenommen sowie laufend Keimmaterial aus dem Fistelsekret gewonnen und differenziert. Die vorgenommenen Untersuchungen waren: Bestimmung der Immunglobuline IgG, IgA, IgM, IgE, des Agglutinationstiters gegen den jeweiligen Vaccinekeim, des Antistaphylolysintiters sowie Bestimmung von Hb, Leukos, BKS, Elektrophorese. Während der ganzen Zeit wurde das Keimspektrum verfolgt.

In dieser Untersuchung wurde die Vaccinegabe auf inaktiviertes Keimmaterial beschränkt.

B) MATERIAL UND METHODEN

1. PATIENTEN

- 1.1. Bei den untersuchten Patienten handelte es sich um zwei Gruppen. Die eine Gruppe mit 20 Patienten erhielt Autovaccine, die andere, bestehend aus 10 Patienten, erhielt ein Placebopräparat.

Die Patienten kamen teils aus der Unfallklinik Murnau, teils aus der Chirurgischen Universitätsklinik München. Alle Patienten litten unter chronischer posttraumatischer Osteomyelitis.

In der Folge werden die Patienten mit Nummern bezeichnet. Es steht immer dieselbe Nummer für den gleichen Patienten. Nummer 1 bis 20 ist den Vaccinepatienten zugeordnet, Nummer 21 bis 30 denjenigen, die nur Placebo erhielten.

- 1.2. Das Alter der einzelnen Patienten, ihre jeweilige Krankheitsdauer vor Behandlung, die Verletzungslokalisation, sowie die gefundene Keimbesiedlung ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

Das Durchschnittsalter der Vaccinepatienten betrug 41,2 Jahre, das der Kontrollgruppe 38,5 Jahre. Die durchschnittliche Behandlungsdauer bei ersteren betrug 15,25 Monate, bei letzteren 31 Monate. Die hohe Durchschnittszahl bei der Placebogruppe kam dadurch zustande, daß zwei Patienten eine Behandlungsdauer von jeweils 108 Monaten aufwiesen vor Placebogabe.

1.3. Unter den 30 untersuchten Patienten waren nur drei weiblichen Geschlechts. Aufgrund des Patientenguts der Unfallklinik Murnau wie der Chirurgischen Universitätsklinik München war es nicht möglich, eine gleich große Anzahl weiblicher wie männlicher Patienten in die Studie aufzunehmen, da Frauen in beiden Kliniken deutlich in der Minderzahl waren.

1.4. Was die Lokalisation der Osteomyelitis betraf, so überwogen deutlich Ober- und Unterschenkel. Lokalisation am Oberschenkel: 17 von 30 Patienten, also 57 %; Lokalisation am Unterschenkel: 10 von 30 Patienten, also 33 %; Hüfte, Knie und Ferse waren jeweils nur einmal betroffen (vergleiche Tabelle 1).

Die Keime, die bei den einzelnen Patienten gefunden wurden, zeigt ebenfalls Tabelle 1. Näheres siehe Kapitel "Bakteriologie".

Tabelle 2 zeigt die Unfallart der einzelnen Patienten auf, sowie die Art ihrer Verletzung.

1.5. Bei der Art des Unfalls ist folgendermaßen auf-
gliedert:

- A = Unfall am Arbeitsplatz
- V/B = Verkehrsunfall auf dem Betriebsweg
- V/S = Sonstiger Verkehrsunfall
- P = Privatunfall/häuslicher Unfall

Unfälle am Arbeitsplatz nehmen die oberste Stelle in dieser Statistik ein mit 53,3 %. Darauf folgen mit 20 % die Verkehrsunfälle auf dem Betriebsweg, mit 13,3 % die Privatunfälle und mit 10 % sonstige Verkehrsunfälle. Bei einem Patienten war es zu einer Osteomyelitis nach einem operativen Eingriff gekommen (Meniskusoperation).

1.6. Bei der Verletzungsart wird unterschieden zwischen:

- g.F. = geschlossene Fraktur
- o.F. = offene Fraktur
- g.Tr.F. = geschlossene Trümmerfraktur
- o.Tr.F. = offene Trümmerfraktur

23 % erlitten geschlossene Frakturen, 23 % offene Frakturen, geschlossene Trümmerfrakturen wurden gefunden bei 36,7 %, offene Trümmerfrakturen bei 6,7 %. Drei der Patienten, also 10 %, erlitten keine Fraktur.

1.7. Was die Anzahl der Operationen der Patienten vor Behandlungsbeginn mit Vaccine/Placebo betrifft, so trafen auf jeden Patienten zwischen vier und fünf Operationen, jeweils nicht mitgerechnet die erste Operation nach dem Unfall. Eine Aufschlüsselung zeigt Tabelle 3.

1.8. Bei allen Patienten wurden, soweit notwendig, die derzeit üblichen Methoden zur Behandlung einer Osteomyelitis angewandt.

Osteosynthesemethoden: Platten, Schrauben, Nägel, Drahtcerclagen, Fixateur externe, Spül-Saugdrainagen mit und ohne Antibiotikazusatz, Refobacin-Palacos-Ketten, orale Antibiotikabehandlung, Lokalbehandlung mit Mercurochrom, Betaisodona, Varidase, Rivanol, Iruxolsalbe, Perubalsam, Sofratull, Aeroplast

Die Behandlung wurde auch während der Zeit der Vaccine/Placebogabe weiter verfolgt. Über acht Wochen lang keine der üblichen Behandlungsmethoden anzuwenden, kann den Patienten gegenüber nicht vertreten werden.

Tabelle 1

Übersicht über die untersuchten Patienten nach Alter, bisheriger Behandlungsdauer, Verletzungslokalisation und Infektionskeim

Patient Nr.	Alter in Jahren	Bisherige Krankheitsdauer in Monaten	Lokalisation					Infektion							
			Oberschenkel	Unterschenkel	Hufte	Knie	Ferse	St aureus	Pseudomonas aeruginosa	Escherichia coli	Proteus mirabilis	Klebsiellen	Enterobakter	Enterokokken	Sonstige
1	55	10	•					•							•
2	64	12	•					•							
3	17	7		•				•							•
4	62	9			•			•							•
5	17	15	•					•							
6	23	25		•				•							
7	62	11		•				•							
8	44	8	•					•						•	•
9	38	21	•					•					•	•	•
10	44	10	•					•			•			•	•
11	20	4	•					•	•			•	•		
12	65	19	•					•	•						
13	25	20		•					•						
14	43	7		•						•	•	•			•
15	50	36	•								•	•			
16	18	11	•								•				
17	24	11	•					•	•	•			•		
18	46	12	•					•	•	•		•			•
19	57	14	•						•	•		•			
20	50	43				•		•	•					•	
21	55	4		•				•					•		
22	19	108					•								•
23	31	108	•					•							
24	42	22		•							•		•		
25	22	10	•					•							
26	40	18	•					•							
27	50	11	•					•							
28	48	9		•				•							
29	53	7		•					•				•		
30	24	13		•						•	•		•		

Tabelle 2

Aufschlüsselung nach Anzahl der Operationen vor Behandlungsbeginn, Unfallart und Art der Verletzung

Nr.	Zahl der Ops vor Behandlung	Art des Unfalls	Art der Ver- letzung
1	4	A	g.F.
2	4	A	g.Tr.F.
3	2	V/B	o.F.
4	3	A	g.F.
5	4	V/S	o.F.
6	6	V/B	o.F.
7	6	A	o.Tr.F.
8	5	A	g.Tr.F.
9	4	A	g.Tr.F.
10	4	P	g.F.
11	2	A	o.F.
12	6	V/B	g.Tr.F.
13	4	A	g.F.
14	3	A	g.Tr.F.
15	9	A	o.F.
16	5	V/S	g.F.
17	3	V/B	g.Tr.F.
18	5	A	g.Tr.F.
19	3	P	o.F.
20	10	POSTOP.	-
21	3	A	g.Tr.F.
22	5	P	-
23	5	P	-
24	3	A	g.Tr.F.
25	7	V/B	g.F.
26	6	A	g.Tr.F.
27	2	V/S	o.F.
28	3	V/B	o.Tr.F.
29	2	A	g.Tr.F.
30	5	A	o.F.

Tabelle 3.1

Zahl der Operationen vor Vaccineapplikation

Nr.	Osteosynthesen	Metallentfernung	Spongiosaplastik	Sequestrotomie	Fistelrevision	Spuldrainage	Hauttransplant.	Arthrodese	Amputation
1	x	x			xx				
2		x		x	x	x			
3	x					x			
4		x		x	x				
5			xx	x		x			
6	x	xxx	x		x				
7	x	x	xx	x			x		
8	x	x			x	x			
9		x	x	xx					
10		x	x	x					
11					xx				
12	xx	xx			x	xx			
13			xx	xx					
14					x				x
15	x	xx	xxx	x		xx			

Tabelle 3.2

Zahl der Operationen vor Vaccineapplikation

Nr.	Osteosynthesen	Metallentfernung	Spongiosaplastik	Sequestrotomie	Fistelrevision	Spuldrainage	Hauttransplant.	Arthrodese	Amputation
16	x	xx			xx				
17		x					xx		
18		x			xx	x		x	
19		x	xx		xx				
20					xxx xxx		xx		
21	x	xx							
22				x	xxxx				
23				x	xxx	x			
24				x	x	x			
25	xx			x	xxx	x			
26	x	x		x	xxx				
27						xx			
28	x		x			x			
29		x				x			
30		x				x	xxx		

2. VERWENDETE MATERIALIEN

Tri-Partigen Immundiffusionsplatten, (Behringwerke AG
Marburg Lahn)

Phadebas IgE Prist, Radioimmunttest, (Pharmacia Diagnostics,
Uppsala, Schweden)

AStal-Test, Antistaphylolysin-Serum (Behringwerke AG
Staphylolysinreagens Marburg Lahn)
Phosphatpufferlösungskonzentrat
Kaninchenblut konserviert

Kulturmedien, Dextrose Broth (Difco Laboratories
Sabouraud Dextrose Broth Detroit Michigan
Thioglycollate Medium USA)

RPMI-Medium (1640), (Seromed
Rosewell-Park-Memorial-Institute)

Dextrose-Blutagar (Merck)
Herstellung: Glucoseagar Merck wird
nach Angabe gemischt mit Aqua bidest
und autoklaviert. Nach dem Autoklavie-
ren wird der Agar abgekühlt auf ca.

50° Celsius. Es werden 50 ml Blut auf 500ml Agar gegeben. Das Ganze wird vorsichtig unter Vermeidung von Blasenbildung gemischt. Die Blut-Agarmischung wird dann in Petrischalen gegossen.

Eiernährböden: Sie werden verwendet zur Keimaufbewahrung. Eier werden mit Wasser und Seife gewaschen, dann abgespült und in 70%-igen Alkohol für 5 min. eingelegt. Den Alkohol läßt man abdunsten. Die stumpfe Seite der Eier wird aufgestochen, die Öffnung mit einer sterilen Pinzette erweitert. Der Inhalt wird in eine mit Glasperlen beschickte Flasche geleert; pro Ei werden 10ml sterile Kochsalzlösung zugegeben. Das Ganze wird geschüttelt, dann in Glasröhrchen gefüllt, sodann unter Schräglagerung bei 80° Celsius im Wasserbad gefestigt (44).

Zentrifuge: Christ-Schwenkkopfzentrifuge (mit 3000 U/min
≈ 1500g)

3. AUSWAHL DES VACCINEKEIMS

Von jedem Patienten wurde vor Beginn der Autovaccineherstellung 2-3mal ein Fistelabstrich entnommen (Weiterbehandlung der Keime siehe Kapitel 2.4).

War jedesmal bei der Abstrichentnahme eine Monokultur des gleichen Keims vorhanden, - Monokulturen waren im Ubrigen in der Überzahl -, war die Auswahl des Vaccinekeims klar. Waren Mischkulturen vorhanden, so wurde der bei dem jeweiligen Patienten am häufigsten vorkommende Keim zur Aufbereitung der Autovaccine verwendet.

Folgende Beispiele zeigen das Vorgehen bei Mischkulturen:

Patient Nr. 18:

1. Abstrich *E. Coli* + *Citrobacter*
2. Abstrich *E. Coli* + *Klebsiella pneumoniae*
3. Abstrich *E. Coli*

Bei Patient 18 wurde eine *Coli*-Autovaccine hergestellt. *E. Coli* war allem Anschein nach der "Grundkeim", was die in der Folgezeit entnommenen Abstriche bestätigten.

Patient Nr. 8:

1. Abstrich *Staphylococcus aureus* + vergrünende Streptokokken
2. Abstrich *Staphylococcus aureus*

Bei diesem Patienten wurde *Staphylococcus aureus* als Vaccinekeim verwendet.

Der immer wieder zwischendurch auftretende Hautkeim *Staphylococcus epidermidis* wurde als Autovaccinekeim nicht verwendet. Er kam nie konstant als Monokultur vor, auch nicht als ständiger Begleitkeim bei Mischkulturen.

Erfolgte während der Vaccinegabe ein Keimwechsel, wurde keine neue Vaccine angefertigt, aus zeitlichen und technischen Gründen. Die begonnene Vaccinierung wurde fortgeführt.

4. KEIMENTNAHME UND DIFFERENZIERUNG

Aus dem Fistelgang des Patienten wurde mit Hilfe eines sterilen Watteträgers ein Abstrich entnommen und direkt in Gläschen mit Dextrosebouillon und Thioglycollate-medium eingelegt. Thioglycollate wurde mitgeführt, um etwaig vorkommende Anaerobier zu erkennen.

Die Gläschen wurden 24 h bei 37°C im Brutschrank inkubiert. War nach dieser Zeit noch kein Wachstum zu erkennen, wurden sie bis zu 48 h im Brutschrank belassen.

Die bei vorhandenem Keimwachstum getrübe Bouillon wurde mittels einer Platinöse fraktioniert auf Blutagarplatten ausgestrichen. Die Agarplatten wurden wiederum bebrütet, eine Probe der so erhaltenen Keimkolonien zur Differenzierung eingesandt an das Landesuntersuchungsamt für Gesundheitswesen Südbayern.

Zur Aufbewahrung wurden die Keime auf Eiernährboden übertragen. Das Keimmaterial wird hierzu auf der schrägen Fläche der Nährböden zickzackförmig ausgestrichen. Die beimpften Eiernährböden werden anschließend bei 37°C bebrütet, dann gut verschlossen im Kühlschrank aufbewahrt.

5. IMPFSTOFFHERSTELLUNG

Zur Autovaccineherstellung wurde der entsprechende Keim vom Eiernährboden entnommen und zunächst auf 10 ml Dextrosebouillon überimpft, nach Wachstum wiederum auf 1000 ml Dextrosebouillon überimpft.

Nach 48-stündiger Bebrütung wurde eine Zählung der Lebendkeime vorgenommen (siehe Abb. 1). Danach erfolgte die Keiminaktivierung im Wasserbad bei 64°C über 90 min.

Anschließend folgte die Inaktivitätsprüfung anhand von Ausstrichen der inaktivierten Bouillon auf Agarplatten. Die inaktivierten Keime wurden dann abzentrifugiert, und zwar 10 min. lang bei 3000 U/min (= 1500g). Der Überstand an Dextrosebouillon wurde mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe und eines Auffanggefäßes abgesaugt und der Bodensatz an Keimmaterial mit physiologischer steriler NaCl-Lösung aufgeschwemmt und dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Am Ende des Vorgangs verblieb ein wägbarer Bodensatz an Keimen. Die Keime wurden sodann in RPMI-Medium resuspendiert.

Der dem Medium zugefügte Indikator zeigt bei Verunreinigung oder Keimwachstum einen Farbumschlag. Die original lachsrote Farbe des Mediums zeigt dann eine violette oder gelbe Verfärbung.

Von der in RPMI-Medium aufgeschwemmten Lösung wurde dann eine Sterilitätsprüfung durchgeführt. Anschließend wurde der Impfstoff steril in Glasfläschchen abgefüllt mit einem Keimgehalt von 1×10^9 Keimen/ml. Die Fläschchen wurden mit sterilen Flachgummistopseln verschlossen und mit Aluminiumkappen versehen. Für jeden Behandlungstag erhielten die Patienten ein Fläschchen mit Impfstoff, also jeder Patient

60 Stück. Der Impfstoff wurde im Kühlschrank bei 0 - 4°C gelagert. Eine Restmenge an Impfstoff von jedem Patienten wurde eingefroren und aufbewahrt.

Um die benötigten Keimmengen zu erhalten, mußten pro Patient etwa 1 - 1,5 l bewachsener Bouillon zentrifugiert und aufbereitet werden.

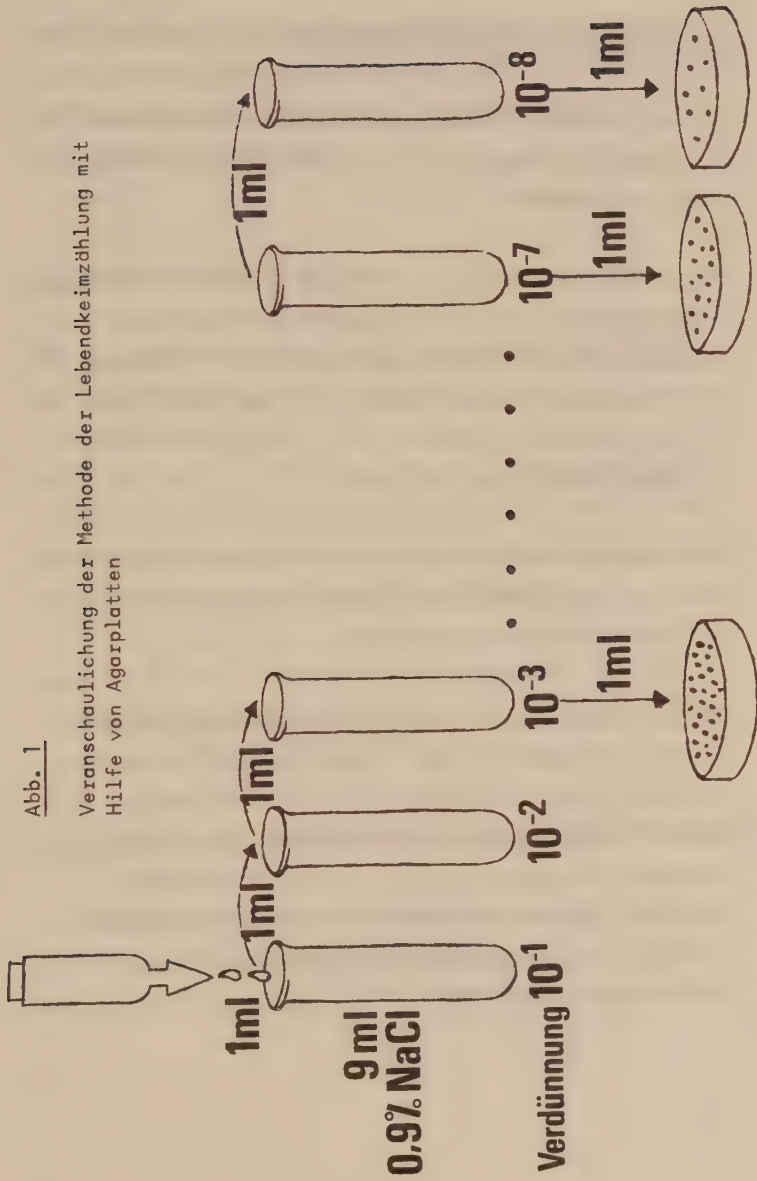
6. KEIMZÄHLUNG

Vor Inaktivierung der bewachsenen Bouillon wurde die Zahl der Lebendkeime festgestellt. Die quantitative Keimbestimmung erfolgte anhand von Verdünnungsreihen mit Kolonienbildung (61).

Zu diesem Zweck wird aus der Bouillon nach gründlichem Aufschütteln 1 ml entnommen und mit steriler physiologischer NaCl-Lösung eine absteigende 10er-Verdünnungsreihe hergestellt. Von den Verdünnungen wiederum wird jeweils 1 ml auf Nähragarplatten ausgestrichen und dann bebrütet. Die auf dem Agar gewachsenen Kolonien werden anschließend gezählt. Zur Keimzählung verwendet man die Platten, die ca. 20 - 200 Kolonien aufweisen, also die Platten, die nicht

zu dicht und auch nicht zu spärlich bewachsen sind. Bei den ersteren nämlich wäre die Zählung schwierig, bei letzteren der Zählfehler zu groß.

Beispiel einer Zählung (siehe Abb. 1): Werden 65 Kolonien gezählt auf einer Platte, die mit 1 ml der Verdünnung 10^{-7} bestrichen wurde, so errechnet man in diesem Fall eine Keimzahl von $6,5 \times 10^8$ lebenden Keimen.



7. STERILITÄTSPRÜFUNG DES IMPFSTOFFS

Von der Impfstofflösung jedes Patienten wurde, bevor der Impfstoff ausgegeben wurde, eine Sterilitätsprüfung durchgeführt.

Dazu wurden je 6 Dextrose-, Thioglycollate- und Sabouraud-Medien beimpft und drei Blutagarplatten bestrichen. Die Blutagarplatten wurden 3 Tage lang bei 37°C inkubiert, die Röhrchen mit Dextrosebouillon 3 Tage bei 37°C bebrütet, daraufhin 2 Tage bei 22°C. Ebenso wurde mit den Thioglycollate-Medien verfahren.

Die Sabouraud-Medien wurden 7 Tage lang bei 22°C bebrütet. Bis zum zehnten Tag schließlich wurden alle Medien bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Im Tierversuch wurden weiße weibliche Mäuse verwendet. (Durchschnittsgewicht 20g). Jeder Impfstoff wurde insgesamt 6 Tieren verabreicht. Je drei erhielten die Vaccine oral, mittels einer Knopfsonde, die in den Ösophagus eingeführt wurde; je drei erhielten den Impfstoff subcutan in die Schwanzwurzel verabreicht. Die Tiere wurden 10 Tage lang auf etwaige Nebenerscheinungen beobachtet.

Ergab die Sterilitätsprüfung kein Keimwachstum und keine Verunreinigung und zeigten sich im Tierversuch keine auffälligen Nebenerscheinungen, wurde der Impfstoff an die Patienten ausgegeben.

8. HERSTELLUNG DER PLACEBOS

Für die Kontrollgruppe wurden Placebos verfertigt, die exakt so aussahen wie die Vaccine.

Zu diesem Zweck wurde RPMI-Medium verwendet, wie beim Originalimpfstoff. Aluminiumhydroxid wurde darin in geringer Menge suspendiert, um optisch wie bei den Originalabfüllungen einen Bodensatz zu erhalten.

Die Lösung wurde in Glasfläschchen abgefüllt und anschließend autoklaviert.

9. DOSIERUNG UND VERABREICHUNG VON AUTOVACCINE UND PLACEBO

Die Patienten Nummer 1 - 20 erhielten 60 Tage lang Auto-vaccine in täglich gleicher Dosierung von 1×10^9 Keimen. Sie nahmen den Impfstoff jeden Morgen auf nüchtern.

nen Magen ein. Zum Nachtrinken erhielten die Patienten jeweils ein Glas Mineralwasser (ca. 150 ml).

Die Patienten Nummer 21 - 30 nahmen ihre Placebopräparate auf dieselbe Art und Weise ebenfalls über einen Zeitraum von 60 Tagen ein.

10. IMMUNGLOBULINBESTIMMUNG

10.1. Bestimmungsmethode der Immunglobuline G, A, M:
Vor, während und nach der Autovaccine/Placebo-
gabe wurden die Immunglobuline G, A und M bestimmt.

Die Bestimmung erfolgte quantitativ mit Immundiffusionsplatten.

Prinzip der Bestimmung:

Die Partigenplatten enthalten ein spezifisches Antiserum gegen die jeweils zu bestimmenden Immunglobuline.

Das zu untersuchende Serum wird in die Stanzlöcher der Platten mit einem Partigendispenser eingebracht, und zwar 0,5 μ l pro Stanzloch.

Für die Bestimmung von IgA und IgM wird unverdünntes Serum verwendet, für die Bestimmung von IgG 1/10 verdünntes Serum.

Bei Benutzung jeder Platte werden jeweils drei Standardlösungen mit unterschiedlichen Immunglobulinkonzentrationen zur späteren Erstellung der Eichkurve mitgeführt. Die Platten werden auf einem Horizontaltisch bei Raumtemperatur gelagert. Von Diffusionsbeginn an bildet sich ein Antigen-Antikörperkomplex. Die Fläche des Präzipitatrings ist der im menschlichen Serum befindlichen Immunglobulinkonzentration direkt proportional.

Die Diffusionszeiten, nach denen abgelesen wurde, betrugen 50 h für IgG und IgA, 80 h für IgM. (Der Endpunkt der Diffusion wurde abgewartet, d.h. die Bildung der maximalen Fläche der Präzipitatringe).

Aus den drei Standardlösungen, vielmehr den quadrierten Durchmessern ihrer Präzipitatringe und den dazu bekannten Konzentrationen wurde auf Millimeterpapier eine Bezugskurve erstellt. Anhand dieser Kurve kann die Immunglobulinkonzentration der untersuchten Seren abgelesen werden. Die Ergebnisse in mg% können mit Hilfe von Konversionsfaktoren in internationale Einheiten (I.E.) umgerechnet werden.

10.2. Bestimmungsmethode des Immunglobulin E:

Das Prinzip der IgE-Bestimmung mit dem Phadebas IgE Prist^R, (Fa. Pharmacia, Schweden), beruht darauf, daß man Serum reagieren läßt mit Anti-IgE-Scheiben (Antikörper von Schafen). Das an die Scheiben gekoppelte Anti-IgE reagiert mit dem IgE des Patientenserums. Nach einem anschließenden Waschvorgang mit physiologischer NaCl-Lösung wird Anti-IgE J¹²⁵-Lösung zugefügt, es kommt zu einer Komplexbildung mit dem gebundenen IgE. Die Radioaktivität wird mit einem Gammazähler gemessen.

Durch das Mitführen von Verdünnungen einer Standardlösung und der Kenntnis der eingesetzten Radioaktivität kann eine Eichkurve erstellt werden. Anhand dieser Kurve kann von der Zählrate der Proben auf die vorhandenen IgE-Einheiten geschlossen werden.

Mit diesem Test können Serumspiegel ab 0,5 U/ml gemessen werden.

11. METHODE DER AGGLUTINATION

Zur Herstellung der Antigenlösung für die Bakterienagglutinationsreaktion wurde der entsprechende Keim jedes Patien-

ten vom Eiernährboden entnommen und frisch angezüchtet. Nach 24-stündiger Bebrütung der beimpften Dextrosebouillon erfolgte die Zentrifugation (10 min. bei 3000 U/min $\pm$ 1500g) und anschließend dreimaliges Waschen in steriler 0,9%-iger Kochsalzlösung.

Das Keimsediment wurde dann in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit einem Magnetrührer bis zum Erreichen einer homogenen Verteilung gerührt. 96%-iger Alkohol wurde zu gleichen Teilen zugefügt. Die Röhrchen wurden 20 h im Brutschrank bei 37°C belassen, dann im Kühlschrank aufbewahrt.

Vor der Verwendung der Antigensuspension erfolgte die Dichteeinstellung nach der Trübungsreihe nach McFarland (44). Die verwendete Dichte entsprach der Trübung McFarland 3.

Es wurde nur die O-Agglutination durchgeführt (Agglutination von Bakterien unter der Einwirkung von spezifischen O-Agglutininen, die gegen bakterielles O-Antigen, auch Körper-Antigen genannt, gebildet wurden) (44).

Von jedem Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung eine halbwertige Verdünnungsreihe hergestellt mit

je 0,5 ml verdünntem Serum in jedem Gläschen. Zu jedem Glas der Verdünnungsreihe, die mit der Verdünnungsstufe $1/2$ begann, wurden 0,5 ml der Antigensuspension hinzugegeben, das Ganze gut umgeschüttelt. Mit dem Antigenzusatz begann also jede Reihe mit der Verdünnung $1/4$. Nach 2-stündiger Inkubation im Brutschrank bei 37°C und anschließendem ruhigen Stehen bei Zimmertemperatur erfolgte die Ablesung der Agglutinationstiter nach insgesamt 20 h. War nach dieser Methode keine Agglutination zu sehen, wurde der Vorgang wiederholt, wobei die Röhrchen insgesamt 18 h lang im Brutschrank verblieben.

Als Kriterium für positiven Ausfall der Agglutination wurde die deutliche Häutchenbildung am Boden des Glases herangezogen, bei sonst klarer Lösung und Bröckelbildung bei leichtem Beklopfen des Glases. (Leerpräparate mit Kochsalz wurden bei jeder Reihe mitgeführt).

Im Durchschnitt wurden pro Patient 6 Seren untersucht. Die verschiedenen Keime verhielten sich bei der Agglutinationsreaktion auch etwas unterschiedlich. So ist es z. B. bei *Pyocyanus* günstiger, die Gläschen nicht für zwei Stunden, sondern über Nacht im Brutschrank zu belassen. Der Keim muß außerdem seiner zähen, schlei-

migen Konsistenz wegen während der Waschvorgänge mit dem Magnetrührer gerührt und nach dem Waschen mit Magnetrührer und Zusatz von Glasperlen gerührt werden, um eine homogene Antigensuspension zu erhalten.

12. BESTIMMUNG DES ANTISTAPHYLOLYSINTITERS

Das Patientenserum wird bei 56°C 30 Minuten lang im Wasserbad komplementinaktiviert. Vom Patientenserum und dem Standardserum (Antistaphylolysin-Serum) wird mit Phosphatpuffer eine Verdünnungsreihe hergestellt, und zwar nach dem Schema:

2 3 4 6 8 12 16 24

Man läßt Serum und Standardverdünnungen reagieren mit Staphylolysin-Reagens (30 min. im Wasserbad bei 37°C), anschließend wird Kaninchenerythrozytensuspension zugegeben. Der Ansatz steht 60 min. im Wasserbad bei 37°C , dann 30 min. bei Raumtemperatur.

Beim Ablesen stellt man das erste Röhrchen mit beginnender Hämolyse fest. Die Patientenserumverdünnung, bei der beginnende Hämolyse festzustellen ist im Ver-

gleich zu der Standardserumverdünnung, bei der beginnende Hämolyse festzustellen ist, ergibt den AStAL-Titer.

Wird z. B. beginnende Hämolyse bei Verdünnung 1/48 des Patientenserums und bei Verdünnung 1/24 des Standardserums festgestellt, ergibt sich ein Titer von 48/24, also 2 I.E./ml. Das Verhältnis der Verdünnungen von Patientenserum und Standardserum, bei denen jeweils Hämolyse festgestellt wird, ergibt vereinbarungsgemäß die Anzahl an I.E./ml.

13. STATISTISCHE BERECHNUNG

Prüfgruppe und Vergleichsgruppe

Es wurden in dieser Arbeit zwei Gruppen untereinander verglichen, eine Patientengruppe, die einer bestimmten Behandlung, in diesem Fall der Gabe oraler Autovaccine unterzogen wurde, und eine Kontrollgruppe, die Placebopräparate erhielt.

Das Prinzip eines statistischen Vergleichs besteht darin, zwei vergleichbare Gruppen zu bilden, die sich in allen Merkmalen gleichen, nur in einem nicht, was in diesem Fall die Behandlung mit Autovaccine wäre, und die Ziel-

größe in beiden Gruppen zu bestimmen sowie die Unterschiede festzustellen.

Die Vergleichsgruppe muß in gleicher Weise untersucht werden sowie hinsichtlich der wichtigsten Merkmale mit der Prüfgruppe übereinstimmen.

Diese genannten Voraussetzungen waren bei der in dieser Arbeit untersuchten Gruppe an Vaccinepatienten, entsprechend der Prüfgruppe, und den Patienten, die Placebopräparate erhielten, also der Vergleichsgruppe, gegeben.

Irrtumswahrscheinlichkeit

Der häufig im Vergleich angewandte Ausdruck "Signifikanz" hat folgende Bedeutung: er bezeichnet eine bestimmte Irrtumswahrscheinlichkeit, die einer Aussage zugrunde liegt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit läßt sich dabei auf einem beliebigen Niveau festlegen. In der Medizin wird im allgemeinen $p < 0,01$ gefordert. Dabei bedeutet $p < 0,01$, daß die der Aussage zugrunde liegende Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1 % zu veranschlagen ist. $p < 0,05$ z.B.

würde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % bedeuten und wird im allgemeinen als "statistisch auffällig" bezeichnet.

Vierfeldertafel

Bei Verwendung einer Vierfeldertafel wird ein Vergleich zweier relativer Häufigkeiten vorgenommen. Unter "relativer Häufigkeit" versteht man z.B. den Prozentsatz an Heilungserfolgen bei einer bestimmten Therapie.

Abkürzungen

$\bar{x}$ bedeutet Mittelwert, s bedeutet Standardabweichung als Maß für die Streubreite gemessener Werte, $s\bar{x}$ veranschaulicht den mittleren Fehler des Mittelwertes.

C) ERGEBNISSE

1. BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1.1. KEIMVERTEILUNG

Die Keimverteilung bei den 30 untersuchten Patienten zeigt Tabelle 4.

Es wurden insgesamt 185 Abstriche dieser Patienten entnommen und differenziert. Dabei konnten 223 Keime isoliert werden. Tabelle 4 zeigt die prozentuale Verteilung bezogen auf die Gesamtzahl an isolierten Keimen.

Staphylococcus aureus steht hier mit 45,2 % an erster Stelle. *Pseudomonas aeruginosa* an zweiter Stelle mit 15,4 %, gefolgt von *E. Coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Enterokokkus*. Hefen wurden nur ein einziges Mal gefunden. (Es wurde immer auch Sabouraud-Medium zur Prüfung auf Pilzwachstum mitgeführt).

Insgesamt wurde *staphylococcus aureus* bei 21 Patienten wenigstens einmal differenziert, *Pseudomonas* bei 8 Patienten, *Enterobacter* bei 7, *Proteus mirabilis* bei 6, *E. Coli* sowie *Klebsiella* jeweils bei 5, *Enterokokken* bei 4.

Tabelle 5 schlüsselt auf nach Häufigkeit des Keimbe-
falls bezogen auf die Gesamtzahl der Patienten.

Auffallend bei den bakteriologischen Befunden war, daß
alle isolierten *Pseudomonas-aeruginosa*-Keime fakultativ
anaerobes Wachstum aufwiesen.

Tabelle 4

Keimverteilung bezogen auf die Gesamtzahl der
isolierten Keime

<u>Keim</u>	<u>Gesamtzahl</u>	<u>Prozent</u>
Staph. aureus	101	45,2
Pseud. aerug.	35	15,4
E. Coli	20	9
Proteus mir.	19	8,5
Klebsiella	13	5,9
Enterobacter	10	4,5
Enterokokken	6	2,7
Staph. epiderm.	8	3,6
Streptok. β -häm.	3	1,4
Citrobacter	2	0,9
Peptoc. spec.	2	0,9
Achromobacter	1	0,5
Corynebact.	1	0,5
Ewardsiella	1	0,5
Hefen	1	0,5
	n=223	100 %

Tabelle 5

Aufschlüsselung nach Häufigkeit des Keimbefalls
bezogen auf die Gesamtzahl der Patienten

Keim	Patienten	
	Zahl	%
Staph. aureus	21	70
Pseud. aerug.	8	26,7
Prot. mir.	6	20
E. Coli	5	16,7
Klebsiella	5	16,7
Enterobacter	7	23,3
Enterok.	4	13,3
Sonstige	9	30

1.2. MONO- UND MISCHKULTUREN

Von den insgesamt 185 Abstrichen, die von den 30 Patienten entnommen wurden, waren:

149 Mono-Kulturen

36 Misch-Kulturen

Tabelle 6 zeigt die Keimkombinationen bei den angetroffenen Mischkulturen.

Wie bereits im Kapitel "Keimentnahme und Differenzierung" erwähnt, wurden die zur Abstrichnahme verwendeten sterilen Watteträger sofort nach erfolgtem Abstrich in Gläschen mit Nährbouillon eingelegt. Die Gefahr des Austrocknens war damit beseitigt, falsch negative Ergebnisse wurden weitgehend vermieden.

Es muß allerdings mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß sich beim Wachstum in einer gemeinsamen Nährbouillon gewisse Keime gegenseitig unterdrücken, so daß bei der späteren Differenzierung nur ein Keim zum Tragen kommt. Die Keimkombinationen in den gefundenen Mischkulturen waren allerdings äußerst vielfältig, wie Tabelle 7 zeigt, so daß aus dieser Sicht nicht darauf geschlossen werden kann, daß bestimmte Kombinationen sich zwangsläufig ausschließen.

Staphylococcus aureus kam mit 11 verschiedenen anderen Keimen vor, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter cloacae, β -hämolyisierende Streptokokken, Enterokokken, Ewardsiella, Klebsiella aerogenes, E. Coli und Hefen. Insgesamt war Staphylococcus aureus an 20 von 36 Mischkulturen beteiligt (55,5 %).

Pseudomonas aeruginosa war beteiligt an 10 von 36 Mischkulturen (27,7 %) und kam zusammen vor mit Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, E. Coli und Klebsiella, also mit vier anderen Keimen.

E. Coli war beteiligt an 8 von 36 Mischkulturen (22,2 %) in Kombination mit folgenden anderen Keimen: Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Citrobacter fr. Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella aerogenes.

Klebsiella aerogenes fand sich in 7 von 36 Mischkulturen (19,4 %).

Staphylococcus epidermidis war beteiligt an ebenfalls 7 von 36 (19,4 %), Proteus mirabilis an 5 von 36 (13,8 %), Enterobacter cloacae an 5 von 36 (13,8 %).

Tabelle 6

Keimkombinationen der gefundenen Mischkulturen

Staph. aureus	+	Pseudomonas aerug.	5
Staph. aureus	+	Staph. epidermidis	4
Proteus mirabilis	+	Klebsiella aerogenes	4
Staph. aureus	+	Enterobacter cloacae	3
Pseudomonas aerug.	+	Staph. epidermidis	2
Pseudomonas aerug.	+	E. Coli	2
E. Coli	+	Citrobacter fr.	2
Staph. aureus	+	Streptokokken	1
Staph. aureus	+	Enterokokken	1
Staph. aureus	+	Ewardsiella	1
Staph. aureus	+	Klebsiella aerogenes	1
Staph. aureus	+	Hefen	1
St. aur. + Streptokokkus	+	Enterokokkus	1
St. aur. + Enterokokkus	+	Corynebakt.	1
Staph. aureus	+	Klebsiella pneumoniae	1
Pseudomonas aerug.	+	Staph. aureus	1
E. Coli	+	Enterobacter cloacae	1
E. Coli	+	Klebsiella pneumoniae	1
E. Coli	+	Klebsiella aerogenes	1
E. Coli	+	Enterobacter aerogenes	1
Proteus mirabilis	+	Staph. epidermidis	1
Achromobacter	+	II	1

Wie eben erwähnt, kommt *Staphylococcus aureus* in Mischkulturen mit 11 verschiedenen Keimen vor, die er im Wachstum also nicht unterdrückt. Insofern darf auch akzeptiert werden, wenn *Staphylococcus aureus* andererseits häufig als reine Monokultur auftritt. Bei den hier untersuchten Patienten war dies in 81 Abstrichen der Fall. Bei einigen Patienten fanden sich sogar ausschließlich und bei jeder Abstrichnahme nur *Staphylococcus aureus*-Monokulturen (Patient Nr. 2, 5, 6, 7).

Pseudomonas aeruginosa trat 25 mal in Monokultur auf, *E. Coli* 12 mal, *Proteus mirabilis* 14 mal, *Klebsiella* 7 mal, *Enterobacter* 5 mal, die Ubrigen Keimer weniger als 3 mal.

Tabelle 7

Prozentuale Beteiligung der Keime an Mischkulturen

Keim	%	Absolutzahl
Staph. aureus	55,5	20
Pseud. aerug.	27,7	10
E. Coli	22,2	8
Klebsiella	19,4	7
Staph. epiderm.	19,4	7
Proteus mir.	13,8	5
Enterobacter	13,8	5
Sonstige	25	9

1.3. KEIMWECHSEL WÄHREND DER VACCINEBEHANDLUNG

Unter der Vaccinebehandlung kam es bei folgenden Patienten zu einem Keimwechsel, genauer zu einem Wechsel desjenigen Keimes, der auch als Vaccinekeim verabreicht wurde:

Bei Patient Nr. 4 war ein Wechsel von *Staphylococcus aureus* zu *Acromobacter* festzustellen, bei Patient Nr. 7 fand ein Keimwechsel von *Staphylococcus aureus* zu *Proteus mirabilis* statt, bei Patient Nr. 11 änderte sich die Keimbesiedlung von *Pseudomonas aeruginosa* zu *Staphylococcus aureus* mit *Klebsiella* und *Enterobacter*. Patient Nr. 15 zeigte einen Keimwechsel von *Proteus mirabilis* zu *Klebsiella*.

2. LABORUNTERSUCHUNGEN

2.1. IMMUNGLOBULINBESTIMMUNG

Um einen kurzen Überblick zu verschaffen, seien an dieser Stelle Vergleichswerte von IgG, A und M vom Serum gesunder Erwachsener angeführt.

Becker (6) gibt folgende Normalwerte an, basierend auf der Untersuchung von 150 Normalpersonen:

	<u>$\bar{x}$</u>	<u>s</u>
IgG	1250 mg/100ml	280 mg/100ml
IgA	210 mg	82 mg
IgM	125 für Männer	53 mg
	160 für Frauen	62 mg

Normalwerte nach Gleichmann (35) in mg/100ml:

	<u>$\bar{x}$</u>	<u>s</u>
IgG	1180	230
IgA	240	90
IgM	150	70

Ähnliche Werte finden sich bei Sailer (103), Henning (48) und Warnatz (128).

2.1.1.

Abb. 2 zeigt die IgG-Werte der Vaccinepatienten vor, während und nach der Impfstoffeinnahme.

Für die 20 Vaccinepatienten fanden sich im Durchschnitt erhöhte IgG-Spiegel vor Autovaccinebeginn von $1632 \pm 109,2$ mg/100ml (das entspricht $187,7 \pm 12,6$ I.E./ml). In der 7. Woche kam es während der Vaccinegabe zu einem Anstieg der IgG-Werte auf $1892,8 \pm 104,7$ mg/100ml (entsprechend $217,7 \pm 12$ I.E./ml). Verglichen mit dem Wert vor Vaccinegabe ist dieser Anstieg allerdings nicht signifikant ($p < 0,05$).

Bei den Kontrollpatienten fand sich vor Placebogabe ein IgG-Durchschnittswert von $1436 \pm 71,7$ mg/100ml ($165,1 \pm 8,3$ I.E./ml).

Wie der Durchschnittswert der untersuchten Vaccinegruppe vor Therapiebeginn liegt auch dieser Wert über den von Becker (8) und Gleichmann (37) angegebenen Werten. Unter der Placebogabe kam es zu keiner signifikanten Änderung der IgG-Serumswerte (s. Abb. 3).

Abb. 2

Verlauf der IgG-Serumkonzentrationen bei 20 Vaccinepatienten vor, während und nach Behandlung mit Autovaccine. Es sind aufgetragen die Mittelwerte mit $\pm s_x$.

Ig G

mg%

2250

2000

1750

1500

Wochen

nach

8

7

6

5

4

3

2

1

vor

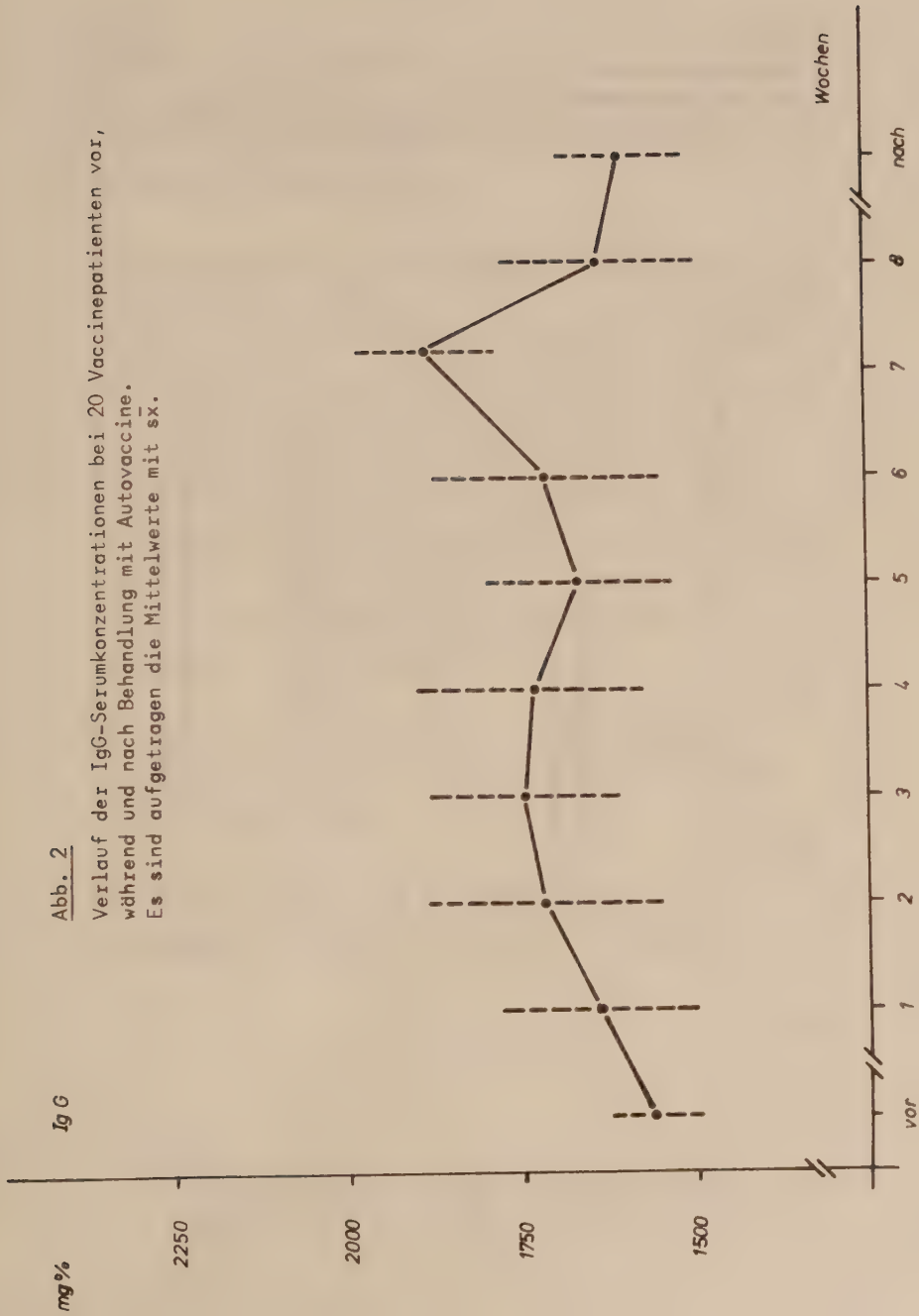
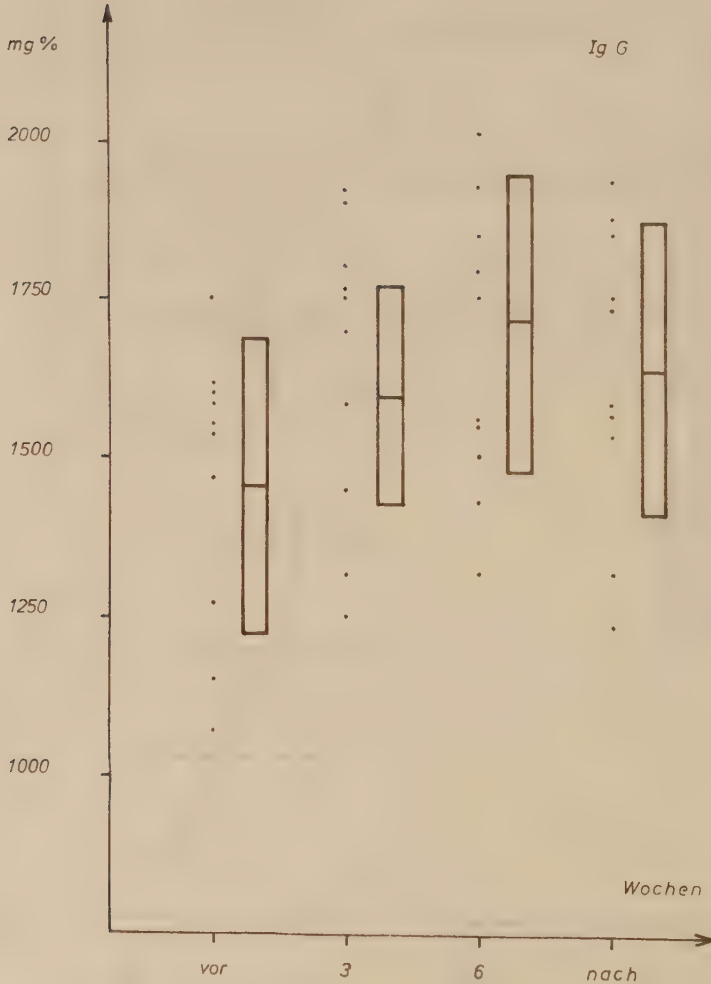


Abb. 3

IgG-Serumkonzentrationen bei der Kontrollgruppe vor, während und nach Placebogabe.

Es sind aufgetragen die Einzelwerte sowie die Mittelwerte mit $\bar{s}\bar{x}$.



2.1.2.

Abb. 4 zeigt die Verlaufswerte von IgA unter Auto-vaccinetherapie. Die graphische Darstellung erfolgt in gleicher Weise wie für IgG.

Die Ausgangswerte vor Vaccinetherapie lagen für IgA bei $276,0 \pm 20,6$ mg/100ml (entspricht $164,2 \pm 12,3$ I.E./ml). In der 1. Woche der Vaccinegabe kam es zu einem geringen nicht signifikanten Anstieg der IgA-Werte, die sich in der 2. und 4. Woche wieder normalisierten. In der 4. Woche lag der durchschnittliche IgA-Spiegel mit $388,0 \pm 44,6$ mg/100ml ($230,8 \pm 26,5$ I.E./ml) deutlich, aber nicht signifikant über dem Ausgangswert ($p < 0,05$). Der IgA-Spiegel blieb während der übrigen 4 Wochen leicht erhöht, um nach Ende der Vaccinetherapie wieder auf Ausgangswerte zurückzugehen.

Bei der Kontrollgruppe fand sich vor Placebogabe ein durchschnittlicher Wert von IgA von $336,9 \pm 49,8$ mg/100ml ($200,5 \pm 29,6$ I.E./ml).

Wie die Abb. 5 zeigt, kam es während und nach der Placebogabe zu keiner Veränderung des IgA-Spiegels.

Abb. 4

IgA-Serumkonzentrationen bei 20 Vaccinopatien-
ten vor, während und nach Behandlung mit Autovaccine.
Es sind aufgetragen die Mittelwerte sowie sx.

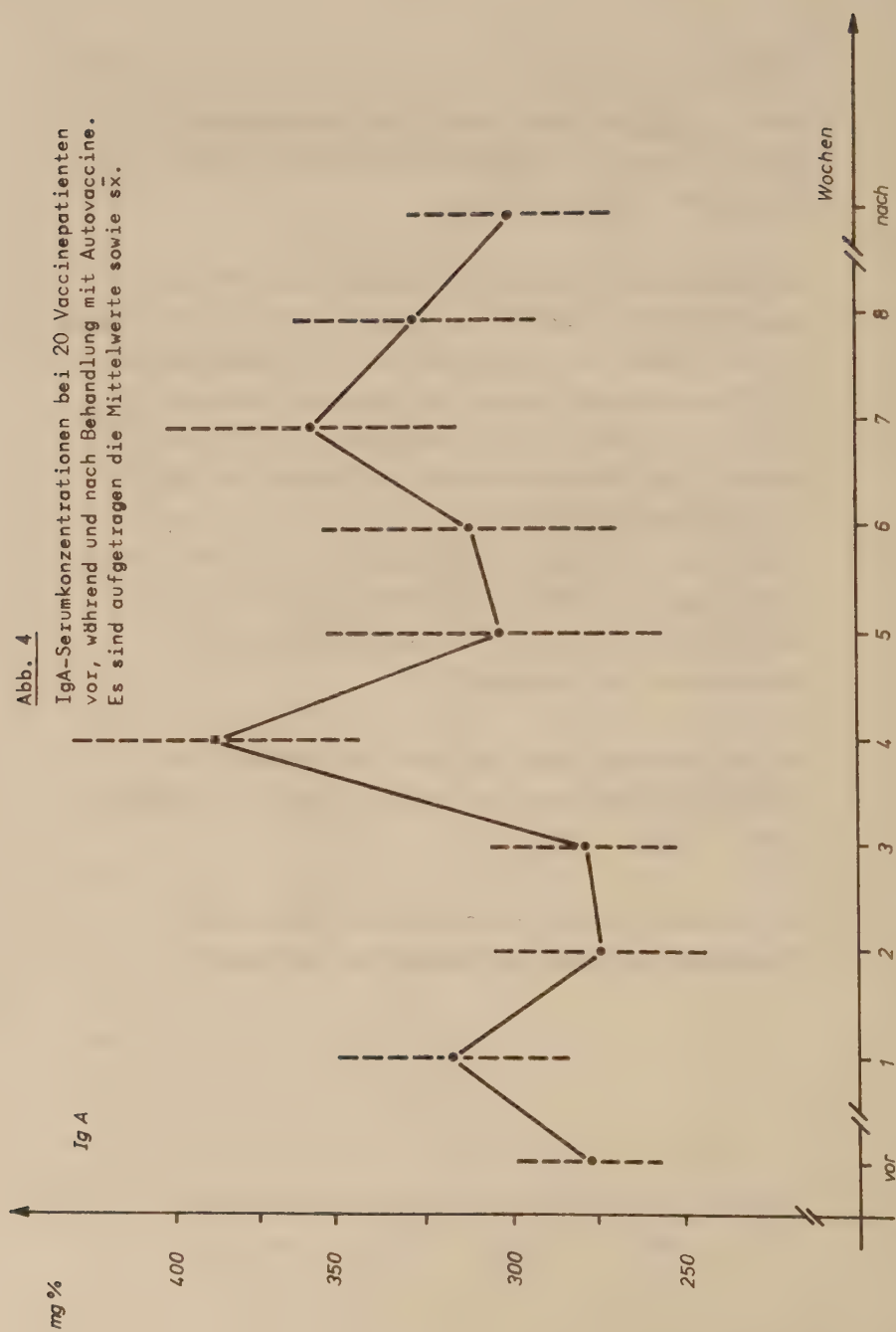


Abb. 5

IgA-Serumkonzentrationen bei der Kontrollgruppe vor, während und nach Placebogabe.
Es sind aufgetragen die Einzelwerte, die Mittelwerte sowie $\bar{s}x$.

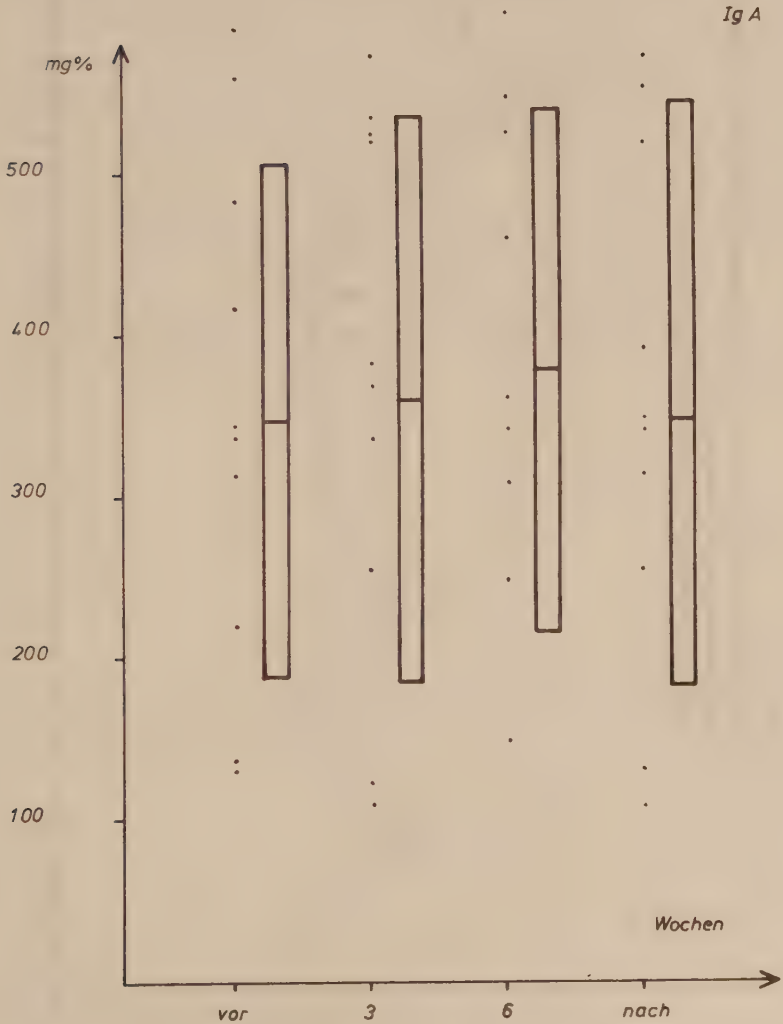
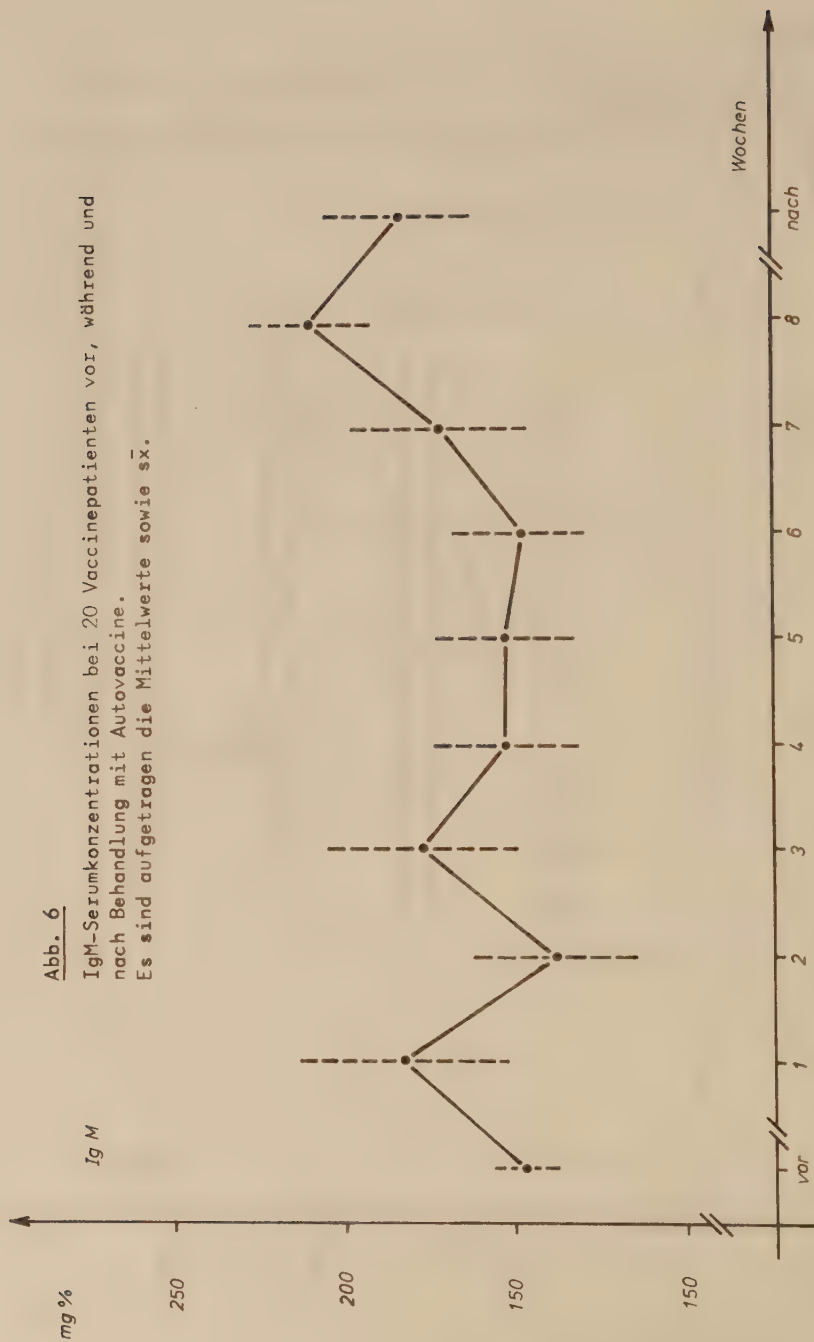


Abb. 6

IgM-Serumkonzentrationen bei 20 Vaccinopatienten vor, während und nach Behandlung mit Autovaccine. Es sind aufgetragen die Mittelwerte sowie $\bar{s}x$.



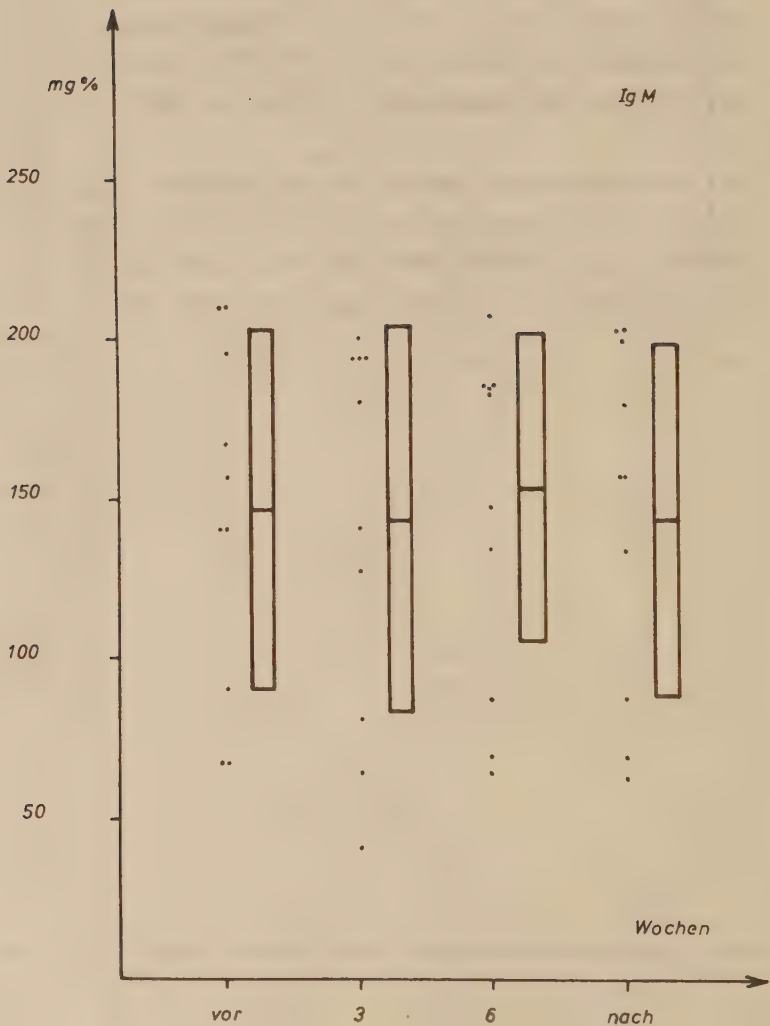
1.1.3.

Die durchschnittlichen Werte für IgM vor Vaccine-therapie lagen bei $143,0 \pm 15,5$ mg/100ml ($164,5 \pm 17,8$ I.E./ml). Verglichen mit dem Ausgangswert stiegen die IgM-Spiegel in der ersten Behandlungswoche an ($p < 0,01$). In der 7. Woche und 8. Woche kam es zu einem erneuten IgM-Anstieg ($p < 0,005$ im Vergleich der 8. Woche zum Ausgangswert). (Siehe Abb. 6).

Der durchschnittliche IgM-Wert bei der Kontrollgruppe 6 vor Placebogabe betrug $136,8 \pm 16,6$ mg/100ml ($157,3 \pm 19,1$ I.E./ml). Unter der Placebogabe kam es zu keiner Änderung der IgM-Spiegel (vergl. Abb. 7).

Abb. 7

IgM-Serumkonzentrationen bei der Kontrollgruppe vor, während und nach Placebogabe.
Es sind aufgetragen die Einzelwerte, die Mittelwerte sowie $s\bar{x}$.



1.1.4. IMMUNGLOBULIN E

Zur Bestimmung des Immunglobulin-E-Spiegels wurde ein Radio-Immuno-Assay verwendet (siehe "Material und Methoden").

Die normale Serumkonzentration an IgE liegt bei Erwachsenen bei 80 - 200 E/ml (= 100 - 500 ng/ml). (66)

Bei jedem Patienten wurden die IgE-Serumspiegel dreimal bestimmt: vor, während und nach der Behandlung. Tabelle 8 zeigt die bei der Vaccine- und Placebogruppe gemessenen Werte. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Werte stark streuen. Der niedrigste Wert liegt bei 0,5 E/ml, der höchste gemessene bei 2600 E/ml.

Bei der Vaccinegruppe waren nach der Behandlung zehn der IgE-Werte gesunken, drei gestiegen, sechs unverändert geblieben (ein Wert konnte nicht zum entsprechenden Zeitpunkt bestimmt werden).

Von den bei der Kontrollgruppe gemessenen Werten waren sieben gesunken, zwei gestiegen und einer unverändert geblieben.

Ein direkter Einfluß der Autovaccine auf die IgE-Konzentration ergab sich nicht.

Tabelle 8.1

IgE-Serumkonzentration bei Vaccinepatienten und
Kontrollgruppe vor, während und nach Behandlung

Nr.	vor Behandlung	nach Behandlung	während Behandlung
1	54	54	66
2	54	24	33
3	36	20	29
4	380	680	590
5	5,8	5,9	4,8
6	760	370	540
7	30	27	28
8	0,5	0,5	0,5
9	98	48	60
10	9	6,1	7
11	3	3,3	3,1
12	8,4	3,9	8,5
13	660	-	840
14	1500	1550	1600
15	8,6	12	12
16	7,8	6	5,2
17	9	9	7,8
18	4,7	3,7	4
19	4	4,1	3,5
20	230	100	115

Tabelle 8.2

IgE-Serumkonzentration bei Vaccinepatienten und
Kontrollgruppe vor, während und nach Behandlung

Nr.	vor Behandlung	nach Behandlung	während Behandlung
21	82	56	58
22	52	47	45
23	15	12	8,8
24	20	27	-
25	190	150	170
26	2600	1750	1550
27	26	26	27
28	5	11,8	11,5
29	28	9	14
30	82	34	36

2.2. ANTISTAPHYLOLYSINTITER

Von allen 30 Patienten wurde der AS_{ta}L bestimmt: vor Vaccine/Placebogabe und 14 Tage nachher. Tabelle 10 zeigt die Einzelwerte der Patienten.

Sechs der Patienten 1 - 10, alles Patienten mit Staphylokokkeninfektionen, weisen Titer über dem Normbereich auf, ein Titer liegt im Normbereich, 2 Titer sind erniedrigt. Betrachtet man die AS_{ta}L-Titer der Patienten 11 - 20, Patienten mit anderen Infektionskeimen als *Staphylococcus aureus*, so sieht man hier nur einen Patienten mit über die Norm erhöhtem Titer (eben dieser Patient wies eine zusätzliche Staphylokokken-Infektion auf).

Die Placebopatienten 21 - 30 zeigen fünf erhöhte Titer. Vier von diesen fünf erhöhten Titern sind Patienten mit Staph.-Infektion zuzuordnen (Patienten Nr. 25, 26, 27, 28).

Insgesamt trafen auf 17 Patienten, die vor Behandlung Staphylokokkeninfektionen aufwiesen oder bei denen Staphylokokken zusätzlich auftraten, 11 erhöhte AS_{ta}L-Titer, d.h. Titer über 2 I.E. Sechs dieser Titer wiederum waren stark erhöht, über 6 I.E.

Die anderen Patienten, 13 an der Zahl, zeigten nur einen einzigen erhöhten Titer (Patient Nr. 30).

Nach der Behandlung war bei den Placebopatienten keine Titeränderung festzustellen. 9 AStal-Titer blieben gleich. Patient Nr. 29 zeigte einen leichten Titer-Abfall, wobei jedoch beide Werte im Normbereich lagen.

Auch bei den Patienten 11 - 20, also den Patienten mit anderen Vaccinekeimen als *Staphylococcus aureus*, war keine Änderung zu bemerken. Nur Patient Nr. 12 zeigte einen Titeranstieg von 1 auf 5,3. Bei ihm war es im Verlauf der Behandlung zu einer Mischinfektion mit *Staphylococcus-aureus*-Beteiligung gekommen.

Bei der Gruppe 1 - 10, also der Gruppe mit vorwiegender *Staphylococcen*infektion, waren 5 von 10 Werten nach Behandlung gesunken.

(Tabelle 9 zeigt die Änderung der AStal-Titer auf).

Tabelle 9.1

AStal-Titer bei Vaccinepatienten und Placebogruppe
vor und nach Behandlung (Angabe des Titers in E/ml)

Nr.	Autovaccinekeim	Titer vor Behandlung	Titer nach Behandlung
1	Staph. aur.	64	32
2	"	2	2,6
3	"	1,3	16
4	"	32	8
5	"	8	5,3
6	"	0,5	0,5
7	"	0,6	0,175
8	"	4	2
9	"	4	8
10	"	4	4
11	Pseud.aer.	5,3	2
12		1	5,3
13		2	2
14	Prot.mir.	1	1
15	"	2	2

Tabelle 9.2

AStal-Titer bei Vaccinepatienten und Placebogruppe
vor und nach Behandlung (Angabe des Titters in E/ml)

Nr.	Autovaccinekeim	Titer vor Behandlung	Titer nach Behandlung
16	Prot.mir.	1	1
17	E. Coli	2	2
18	"	0,5	0,5
19	"	0,25	0,25
20	Enterok.	1	1
21	Placebo	1	1
22	"	1,3	1,3
23	"	2	2
24	"	1,3	1,3
25	"	4	4
26	"	10,6	10,6
27	"	16	16
28	"	10,6	10,6
29	"	2	0,3
30	"	4	4

Am Ende der Beobachtungszeit waren die Titerwerte der Patienten mit Staphylococcus aureus-Vaccine in

50% gesunken
20% gestiegen
30% gleich geblieben,

Patienten mit Vaccine aus anderen Keimen in

10% gesunken
10% gestiegen
80% gleich geblieben,

Patienten, die Placebo erhielten

10% gesunken
0% gestiegen
90% gleich geblieben

Obwohl der AStal-Titer bei 50 % der Patienten mit Staphylococcus aureus-Vaccine einen Abfall zeigte, konnte rechnerisch keine Korrelation zwischen klinischer Besserung und AStal-Reaktion gefunden werden.

Tabelle 10 zeigt die Titer vor und nach Vaccine/Placebo-gabe zusammen mit der - vorausgenommenen - Punktbewertung der Patienten. Ein starker Rückgang der Punktezahl bedeutet starke Verbesserung, da die Punkte sozusagen Negativpunkte bedeuten. In der letzten Spalte der Tabelle ist die Punktedifferenz angegeben, was die Besserung der klinischen Befunde wiedergibt.

Tabelle 10.1

AStal-Titer vor und nach Vaccine/Placebogabe mit Angabe der
Punktezahl vor und nach Behandlung und Änderung der Punkte-
zahl während dieser Zeitspanne

Nr.	Autovaccine- Keim	AStal-Titer		Behandl.-Ergebnis in Punkten		
		vor Vaccine	nach Vaccine	vor Vaccine	nach Vaccine	vor nach
1	Staph.aureus	64	32	100	48	52
2	"	2	2,6	100	16	84
3	"	1,3	16	100	28	72
4	"	32	8	95	44	51
5	"	8	5,3	94	30	64
6	"	0,5	0,5	82	10	72
7	"	0,6	0,175	88	10	78
8	"	4	2	100	18	82
9	"	4	8	100	26	74
10	"	4	4	76	32	44
11	Ps.aeruginosa	5,3	2	100	56	44
12	"	1	5,3	100	62	38
13	"	2	2	55	0	55
14	Prot.mir.	1	1	58	20	38
15	"	2	2	76	0	76

Tabelle 10.2

AStal-Titer vor und nach Vaccine/Placebogabe mit Angabe der Punktezahl vor und nach Behandlung und Änderung der Punktezahl während dieser Zeitspanne

Nr.	Autovaccine- Keim	AStal-Titer		Behandl.-Ergebnis in Punkten		
		vor Vaccine	nach	vor Vaccine	nach	vor nach
16	Prot.mir.	1	1	83	10	73
17	E. coli	2	2	94	8	86
18	"	0,5	0,5	94	0	94
19	"	0,25	0,24	88	16	72
20	Enterokokken	1	1	58	20	38
21	Placebo	1	1	100	48	52
22	"	1,3	1,3	66	58	8
23	"	2	2	75	40	35
24	"	1,3	1,3	84	78	6
25	"	4	4	94	78	16
26	"	10,6	10,6	88	30	58
27	"	16	16	68	88	20
28	"	10,6	10,6	94	62	32
29	"	2	0,3	68	68	0
30	"	4	4	68	58	10

2.3. BAKTERIENAGGLUTINATIONSTITER

Die Agglutination wurde bei allen 30 Patienten durchgeführt.

Es gibt zwei Arten von Agglutinationsreaktionen:

H-Agglutination der Geiselantigene - nur bei begeißelten Bakterien wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* - und O-Agglutination der Oberflächenantigene (44; 61). Bei dieser Untersuchung wurde nur die O-Agglutination durchgeführt (44).

Tab. 11.1. und 11.2. zeigen die Agglutinationstiter der einzelnen Patienten vor, während und nach Behandlung.

Es sind in den Tabellen nicht die Serumverdünnungsstufen angegeben, sondern der $10g_2$ der Verdünnungshöhe.

Bei den 20 Vaccinepatienten waren die entsprechenden, zur Herstellung der Antigensuspension dienenden Keime:

Staph. aureus 10x

Pseudomonas aeruginosa 3x

Proteus mirabilis 3x

E. Coli 3x

Enterokokken 1x

Tabelle 11.1.

Bakterienagglutinationstiter vor, während und nach Behandlung (die Zahlenangaben entsprechen dem $10g_2$ des jeweiligen Titers)

Nr.	Autovaccine	Titer		Woche							Titer	
		vor	Vaccine	1	2	3	4	5	6	7	8	nach Vaccine
1	Staph.aer.	7	7		7	8	8					7
2	"	7		7	7		7	8		8		7
3	"	5		5	6		7		6			6
4	"	6		7	6	7	7					7
5	"	7		7	7	7		6	7	6	6	6
6	"	6		6		6	6	6				6
7	"	6		6	7	7	7			7		7
8	"	7		7	7	7		8	8	8		8
9	"	7		7			7				7	7
10	"	6			7			6				6
11	Pseud.aer.	7		9	9		9		8			8
12	"	7		6		6	6		6		7	7
13	"	7		6				6			6	6
14	Prot.mir.	6		7	8				7	7		7
15	"	5						7				8

Tabelle 11.2

Bakterienagglutinationstiter vor, während und nach Behandlung (die Zahlenangaben entsprechen dem $10g_2$ des jeweiligen Titers)

Nr.	Autovaccine	Titer vor Vaccine	Woche								Titer nach Vaccine
			1	2	3	4	5	6	7	8	
16	Prot.mir	7	6	6	6	6		6	6		6
17	E.Coli	7			6			7	7	7	7
18	"	9	9	9				10	10	10	10
19	"	6			6		6			5	5
20	Enterok.	5		5		6	8	9		8	6
21	Placebo	9			9		8	8			8
22	"	6			6		6		6		6
23	"	8			8		8	8			8
24	"	4			4		4	4			4
25	"	4			4		4				3
26	"	7			7		7	7			7
27	"	8	8		8		8				8
28	"	7			7		7		7		7
29	"	6	7		7		6				7
30	"	7			7		6		6		7

Die für die Reaktion mit dem Serum der Placebo-Patienten dienenden Keime waren:

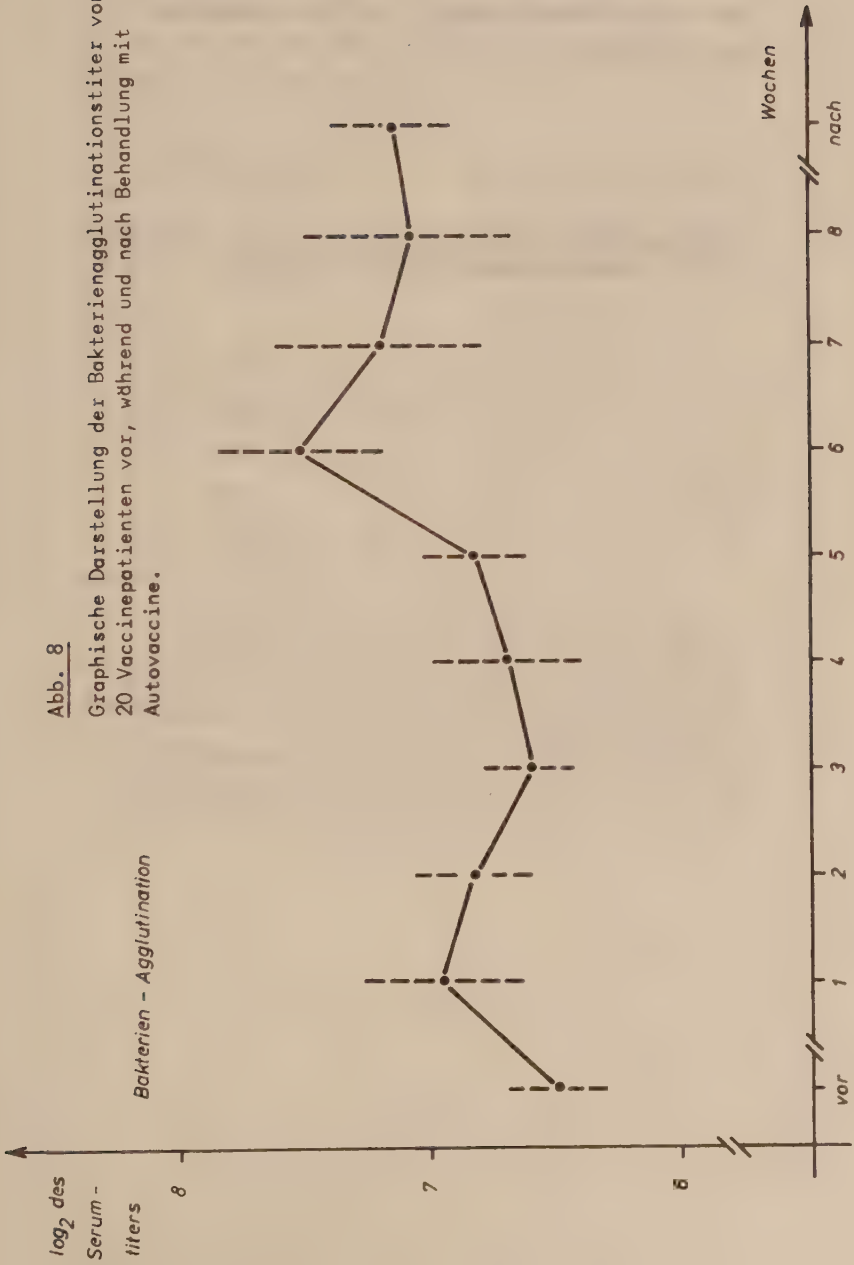
Staphylococcus aureus 6x
*Peptococcus*spezies 1x
Enterobacter cloacae 1x
Pseudomonas aeruginosa 1x

Die hier bestimmten Titer der Patienten gegen ihre autologen Keime vor Behandlung schwankten zwischen 5 und 9 gegen *Staphylococcus aureus* (entsprechend 1/32 und 1/512), gegen *Pseudomonas aeruginosa* zwischen 6 und 7 (entsprechend 1/64 und 1/128), gegen *E. Coli* zwischen 6 und 9 (entsprechend 1/64 und 1/512), gegen *Proteus* zwischen 5 und 7 (entsprechend 1/32 und 1/128).

Abb. 8 zeigt den graphischen Verlauf der Agglutinationstiter der 20 Vaccinepatienten während der Behandlung. Im Verlauf der Vaccination kam es bis zur 6. Woche zu einem Titeranstieg um insgesamt 1,2 Titerstufen. Anschließend fielen die Titer leicht ab, um nach Beendigung der Vaccination wieder den Ausgangswert zu erreichen.

Abb. 8

Graphische Darstellung der Bakterienagglutinationstiter von 20 Vaccinopatienten vor, während und nach Behandlung mit Autovaccine.



In der Kontrollgruppe kam es zu keiner Veränderung während der Beobachtungszeit. Die Titer schwankten hier um maximal 0,13 Stufen.

Tabelle 12

Agglutinationstiter der Placebopatienten 21 - 30 vor,
in der 3. und 5. Woche und nach Placebogabe

	$\bar{x}$	Sx	$S\bar{x}$
vor	6.60	1.65	0.52
3. Woche	6.56	1.67	0.56
5. Woche	6.40	1.51	0.48
nach	6.50	1.72	0.54

Der Anstieg um durchschnittlich 1,2 Titerstufen ist gegenüber der Kontrollgruppe rechnerisch nicht signifikant. Allerdings sind auch nach Literaturangaben Antikörperanstiegenach enteraler Antigenexposition beim Menschen nicht so hoch und so regelmäßig anzutreffen wie nach parenteraler (81,90).

2.4. ELEKTROPHORESE

Der Beurteilung der Elektrophorese wurden folgende Normwerte zu Grunde gelegt:

Gesamteiweiß: 65 - 80 mg%

Albumin + Präalbumin	57 - 68 Rel.%
α_1 -Globulin	1,8-4,0 Rel.%
α_2 -Globulin	5,0-9,0 Rel.%
β -Globulin	8,3-12,5 Rel.%
γ -Globulin	12 - 19 Rel.%

Typische Veränderungen in der Elektrophorese bei chronischen Infektionen sind in Hitzig (54) zu finden.

Vor Behandlungsbeginn lag bei den 30 untersuchten Patienten mit Osteomyelitis das Gesamteiweiß bis auf drei Ausnahmen im Normbereich, 12 Patienten hatten erniedrigte Albuminwerte, 7 Patienten zeigten erhöhte α_1 -Werte, bei 11 Patienten fanden sich erhöhte α_2 -Globulinwerte, 13 Patienten zeigten erhöhte γ -Globulinwerte. Bei einem Patienten war die β -Globulinfraktion erniedrigt (siehe Tab. 14).

Tabelle 13.1

Elektrophoresewerte der 30 Osteomyelitispatienten vor und nach Behandlung mit Vaccine bzw. Placebo

Nr.	Gesamt-Eiweiß	vor			γ	Gesamt-Eiweiß	Albumin	nach			γ
		α_1	Albumin	Globuline α_2 β				α_1	Albumin	Globuline α_2 β	
1	7	4	46	13 13	24	7,3	53	4	10	10	23
2	6,7	4	48	15 13	20	6	61	5	11	11	12
3	7	7	51	20 12	10	7,6	68	4	12	5	11
4	7,2	4	62	10 10	14	8	57	3	11	12	17
5	7	4	55	11 10	20	7,3	59	3	8	9	21
6	7,5	6	58	12 10	14	6,8	66	3	7	10	14
7	6,5	3	62	9 12	14	6,5	53	6	10	10	21
8	6,1	3	67	8 9	13	6,7	70	5	8	7	10
9	6,8	3	70	7 8	12	-	-				
10	7	4,5	59	10 13,5	12,5	7,3	64	2,5	10,5	9,5	13,5
11	7,5	6	52,5	13,5 12	16	7,4	54,5	4,5	13,5	14,5	13
12	7,3	6	43	12 11	28	7,8	48	3	10	11	28
13	7	2	58	9 11	20	-	-				
14	7,8	3	63	9 11	14	7,4	65	2	8	11	14
15	5,5	3	59	12 12	14	-	-				

Tabelle 13.2

Elektrophoresewerte der 30 Osteomyelitispatienten vor und nach Behandlung mit Vaccine bzw. Placebo

Nr.	<u>vor</u>			<u>nach</u>				
	Gesamt- Eiweiß	Albumin	α_1	Globuline α_2 β γ	Gesamt- Eiweiß	Albumin	α_1	Globuline α_2 β γ
16	7,2	59	3	6 9 23	7,5	58	2	4 10 20
17	8,2	55	3	7 10 25	7,8	53	3	9 11 20
18	6,7	53	3	10 10 24	6,7	53	3	7 12 25
19	7,7	52,5	4,5	10,5 16 16,5	7,6	58	3,5	8,5 12 18
20	6,1	65	3	7 12 13	6,7	61	6	12 11 10
21	7	61,6	3,8	8,3 10,6 15,5	6,8	59,6	3,7	8,1 9,5 18,3
22	6,5	60	3,5	9,5 9,5 14,9	8,3	64,9	3,2	7,7 8,3 15,5
23	6,7	64,2	2,9	6,3 9,5 16,8	8,4	58	2	6,9 10 20
24	7,5	62,8	3,4	9,1 12,3 11,9	7,8	65,4	3,5	8 9 11,1
25	7,5	60,3	2,6	11,1 5,6 20	8	-		
26	7,7	52,1	4,2	6,3 8,8 28,4	7	-		
27	7,6	48,8	4,4	14,5 9,5 22,6	7,4	54,5	2,2	9,7 12,2 19,9
28	8				7,4			
29	7,2	55	3	7 11 22	6,7	54,3	3,6	8,5 11,5 20,9
30	7,6	61,6	2,4	6 9,1 20,8	7,6	62,4	2,1	5,5 9,3 20,5

Bei 3 Vaccinepatienten kam es unter der Therapie zu einer Normalisierung der Albuminwerte, 4 x normalisierte sich der Globulinwert, 1 erhöhter-Globulinwert kehrte zur Norm zurück.

Was die Placebopatienten betrifft, so konnte nur bei einem das Zurückgehen des erhöhten und Globulins festgestellt werden.

2.5. BKS

Erhöhte BKS-Werte vor Behandlung fanden sich bei

17 von 20 Vaccinepatienten (85%) und

7 von 10 Placebopatienten (70%),

insgesamt also 24 erhöhte BKS-Werte bei 30 Patienten mit florider Osteomyelitis (80%).

Trotz bestehender Fistelung hatten 6 der Patienten eine normale Senkung (20%).

Tabelle 14 vergleicht die BKS-Werte vor und nach Behandlung.

Tabelle 14.1

BKS-Werte der Vaccinepatienten und der Kontroll-
gruppe vor und nach Behandlung

Nr.	vor Vaccine/Placebo	nach Vaccine/Placebo
1	113/35	48/78
2	80/106	25/58
3	100/120	10/25
4	106/131	80/121
5	40/76	3/11
6	39/65	8/20
7	62/98	6/15
8	104/131	21/45
9	66/105	26/53
10	22/49	31/63
11	93/115	36/72
12	34/58	32/63
13	6/15	3/9
14	35/70	8/20
15	21/48	4/6

Tabelle 14.2

BKS-Werte der Vaccinepatienten und der Kontroll-
gruppe vor und nach Behandlung

Nr.	vor Vaccine/Placebo	nach Vaccine/Placebo
16	7/17	3/10
17	25/52	15/38
18	63/104	2/4
19	57/85	24/53
20	15/28	6/18
21	76/121	58/69
22	25/50	14/34
23	6/17	3/12
24	65/93	47/72
25	98/120	82/110
26	35/60	18/42
27	22/53	34/60
28	59/90	34/60
29	10/35	10/36
30	10/30	5/16

Bei 10 Vaccinepatienten (50%) ergab sich hierbei eine Normalisierung der Senkungswerte auf 10/20.

Insgesamt kam es zu einer Besserung der BKS bei 80 % der Vaccinepatienten. 20 % (vier Patienten) zeigten gleichbleibende Werte. Bei keinem Patienten kam es während der Vaccinetherapie zu einer Verschlechterung der Blutsenkung.

Bei der Kontrollgruppe ergaben sich keine großen Änderungen. Bei 60 % (sechs Patienten) veränderten sich die Werte nicht. Eine leichte Besserung der Senkung trat bei vier Patienten auf, wobei die Endwerte allerdings noch immer im pathologisch erhöhten Bereich lagen.

2.6. LEUKOZYTEN

Zusammen mit den Werten von BKS, Hb, Hkt und Elektrophorese wurden auch die peripheren Leukozytenzahlen der Patienten bestimmt: vor, während und nach Vaccine-Placebo-Behandlung.

Traten erhöhte Leukozytenzahlen auf, so geschah dies hauptsächlich im Rahmen kurzfristiger postoperativer Leukozytosen oder durch zusätzliche Infektionen oder durch Abszessverhalten.

Unter der hier angewandten Behandlung kam es zu keiner Veränderung der Leukozytenzahlen.

3. KLINISCHER VERLAUF, PUNKTEBEWERTUNG

Zur Beurteilung des klinischen Verlaufs wurden die Parameter BKS, Röntgenbefunde und äußere Fistelverhältnisse in ein Punkteschema eingeordnet (28, 98), BKS als empfindlicher Parameter für die Aktivität der Infektion, Röntgenbefunde, da diese vor allem nach längerer Beobachtungszeit gute objektive Zeichen für den Erfolg einer Therapie sind, schließlich die Fistelverhältnisse, aufgrund derer ohne großen Aufwand eine ruhende Osteomyelitis oder ein Rezidiv beurteilt werden können.

Die Punktebewertung der einzelnen Parameter erfolgte nach folgendem Schema:

BKS			40 Punkte
1/2	bis	10/20	0
10/20	"	20/40	8
20/40	"	30/60	16
30/60	"	40/80	22
40/80	"	60/100	28
60/100	"	80/120	40
		80/120 und mehr	

<u>Röntgenbefunde:</u>	<u>30 Punkte</u>
Knöcherne Durchbauung	0
Kalksalzzunahme	10
Kalksalzminderung	20
Sequester	25
Pseudarthrose	30

<u>Äußere Fistelverhältnisse:</u>	<u>30 Punkte</u>
Fistel abgeheilt	0
Fistel verkleinert (<1cm)	10
Fistel unverändert	20
Fistel vergrößert (>1cm)	30

Für die BKS-Befunde wurden insgesamt 40 Punkte angesetzt. Es erfolgte eine Unterteilung in 7 Stufen, von Bewertung einer Senkungsnormalisierung mit 0 Punkten bis zur Einstufung einer massiven Erhöhung auf 80/120 und darüber mit 40 Punkten.

30 Gesamtpunkte erhielten die Röntgenbefunde. Die Höchstzahl von 30 Punkten erhielt die infizierte Pseudarthrose, mit 26 Punkten wurden Sequester bewertet, 20 Punkte wurden Umbauzonen mit sichtbarer

Kalksalzminderung zugeordnet, 10 Punkte wurden gerechnet für röntgenologisch sichtbare Kalksalzzunahme, 0 Negativpunkte wurden angesetzt für stabile Verhältnisse mit guter knöcherner Durchbauung.

Die äußeren Fistelverhältnisse wurden mit insgesamt 30 Punkten belegt. Für eine zunehmende Fisteleiterung wurde die höchste Negativzahl von 30 Punkten angesetzt, 20 Punkte für gleichbleibende Fistelgröße, 10 Punkte für eine sich verkleinernde Fistel und schließlich 0 Punkte für eine geschlossene Fistel.

Der Ausgangspunkt bei ungünstigsten Verhältnissen lag also bei einer maximalen Punktzahl von 100.

Tabelle 16 zeigt das Ergebnis der Autovaccinebehandlung in Form der BKS-Angaben vor und nach Vaccinebehandlung, mit Beurteilung der Wundverhältnisse und Röntgenbefunde, und gibt die Länge der Beobachtungszeit bei jedem Patienten an.

Tabelle 17 zeigt das Gesamtergebnis der oralen Vaccine- und Placebobehandlung im Punktvergleich. Es sind daraus zu entnehmen die Punktebewertung vor und nach Vaccine/Placebothherapie.

Die Ausgangswerte der Vaccine- und Placebogruppe unterschieden sich statistisch nicht ($p < 0,15$). Es war also die Voraussetzung für einen Vergleich gegeben.

In der Vaccinegruppe war am Ende der Vaccinierung insgesamt eine Verbesserung um 62 Skalenpunkte zu verzeichnen, während bei der Placebogruppe nur ein Rückgang um 18 Punkte ersichtlich war (vgl. Abb. 9).

Daß in der Placebogruppe ebenfalls eine gewisse Verbesserung eintrat, ist durch die ja in beiden Gruppen fortgeführte übliche Osteomyelitistherapie zu erklären. Zwischen beiden Gruppen, Vaccine- und Kontrollgruppe, lag eine Differenz von 40 Punkten, zugunsten der Vaccinegruppe. Es liegt also eine im Vergleich zur Placebogruppe signifikante ($p < 0,0005$) Besserung der Autovaccinegruppe vor.

4. NEBENWIRKUNGEN DER AUTOVACCINE

Oral angewandter inaktivierter bakterieller Impfstoff zeigte allgemein bisher keine unangenehmen Nebenerscheinungen. Auch bei der Anwendung oraler Autovaccine bei Osteomyelitispatienten traten keine solchen auf. Zwei Patienten gaben leicht vermehrte Darmtätigkeit während der Impfstoffeinnahme an. Somit ist die orale Applikation von inaktivierten Keimen von allen Patienten ausgezeichnet toleriert worden.

Tabelle 15.1

Leukozytenzahlen vor und nach Behandlung

Nr.	vor Behandlung	nach Behandlung
1	10.000	11.000
2	9.000	9.000
3	6.700	7.500
4	17.300	12.200
5	7.100	10.300
6	7.800	6.900
7	7.500	6.000
8	7.300	7.400
9	-	-
10	5.100	5.400
11	13.000	11.400
12	10.200	7.400
13	10.000	9.500
14	5.400	3.300
15	11.800	7.100

Tabelle 15.2

Leukozytenzahlen vor und nach Behandlung

Nr.	vor Behandlung	nach Behandlung
16	5.700	7.700
17	6.700	6.000
18	4.600	5.000
19	11.000	9.000
20	6.400	7.600
21	5.700	6.500
22	9.500	9.700
23	4.400	5.000
24	7.400	6.800
25	5.800	8.600
26	10.100	6.100
27	7.500	9.300
28	8.300	6.400
29	11.000	8.600
30	6.200	5.100

Tabelle 16.1

Vergleich der klinischen Parameter BKS, Fistelverhältnisse und Röntgenbefunde bei Vaccine- und Placebopatienten vor und nach Behandlung

Nr.	vor Autovaccine	nach Autovaccine	Äußere Wund- verhältnisse nach Autovaccine	Röntgen- befunde nach Autovaccine	Beobach- tungszeit nach Autovaccine
1	113/135	48/78	Fistel unverändert	beginnender Durchbau Kalksalzzun.	11 Monate
2	80/106	25/58	abgeheilt während V.	guter knöch. Durchbau	9 Monate
3	100/120	10/20	abgeheilt 3 Mon.n.V.	Kalksalzzu- nahme	8 Monate
4	106/131	80/121	abgeheilt Amput.	beginnender Durchbau Kalksalzzun.	8 Monate
5	40/76	3/11	abgeheilt während V.	zunehmende Knochenneu- bildung	5 Monate
6	39/65	8/20	abgeheilt während V.	Zunahme der Kalksalzdichte	2 Monate
7	62/105	6/15	abgeheilt 1 Mon.n.V.	knöcherne Konsolidierung	12 Monate
8	104/131	21/45	abgeheilt 2 Mon.n.V.	Zunahme der Kalksalzdichte	10 Monate
9	66/105	26/53	abgeheilt 4 Mon.n.V.	beginnender Durchbau	10 Monate
10	22/49	31/63	abgeheilt während V.	Zunahme der Kalksalzdichte	12 Monate

Tabelle 16.2

Vergleich der klinischen Parameter BKS, Fistelverhältnisse und Röntgenbefunde bei Vaccine- und Placebopatienten vor und nach Behandlung

Nr.	vor Autovaccine	nach Autovaccine	Äußere Wund- verhältnisse nach Autovaccine	Röntgen- befunde nach Autovaccine	Beobach- tungszeit nach Autovaccine
11	93/115	36/72	Fistel unverändert	Zunahme der Kalksalzdichte	7 Monate
12	34/58	32/63	Fistel unverändert	beginnender Durchbau	12 Monate
13	6/15	3/9	abgeheilt 3 Mon.n.V.	knöchern durchbaut	6 Monate
14	35/70	8/20	abgeheilt während V.	Kalksalz- minderung	6 Monate
15	21/48	4/6	abgeheilt während V.	knöcherne Konsolidierung	11 Monate
16	7/17	3/10	abgeheilt während V.	vermehrter knö- cherer Durchbau der Defekthöhle	5 Monate
17	25/52	15/38	abgeheilt während V.	knöchern durchbaut	13 Monate
18	63/104	2/4	abgeheilt 1 Mon.n.V.	keine Osteolysezeichen	5 Monate
19	57/85	25/52	abgeheilt 2 Mon.n.V.	knöcherne Konsolidierung	5 Monate
20	15/28	6/18	Fistel ver- kleinert	Zunahme der Kalksalzdichte	10 Monate

Tabelle 16.3

Vergleich der klinischen Parameter BKS, Fistelverhältnisse und Röntgenbefunde bei Vaccine- und Placebopatienten vor und nach Behandlung

Nr.	vor Autovaccine	nach Autovaccine	Äußere Wund- verhältnisse nach Autovaccine	Röntgen- befunde nach Autovaccine	Beobach- tungszeit nach Autovaccine
21	76/121	58/69	abgeheilt 4 Mon.n.P.	Kalksalz- verminderung	7 Monate
22	25/50	14/34	Fistel unverändert	beginnende knöcherne Konsolidierung	10 Monate
23	6/17	3/12	abgeheilt 4 Mon.n.P.	Durchbau nicht abgeschlossen	12 Monate
24	65/93	47/72	Fistel vergrößert	ausgedehnte Osteolysen	6 Monate
25	98/120	82/110	Fistel unverändert	Kalksalz- verminderung	9 Monate
26	35/60	18/42	abgeheilt 2 Mon.n.P.	kein knöcherner Durchbau	12 Monate
27	22/53	34/60	Fistel unverändert	Pseudarthrose	9 Monate
28	59/90	10/36	Fistel unverändert	beginnender Durchbau	9 Monate
29	10/35	10/38	Fistel vergrößert	ausgedehnte Osteolyse	6 Monate
30	10/30	5/16	Fistel unverändert	weitergehende Osteolyse	7 Monate

Tabelle 17.1

Punktevergleich der Vaccinepatienten und der Kontrollgruppe

Nr.	<u>Vor Behandlung</u>				<u>Nach Behandlung</u>				Δ vor/nach
	BKS	Rö	Fistel	Gesamt- punkte	BKS	Rö	Fistel	Gesamt- punkte	
1	40	30	30	100	28	10	10	48	52
2	40	30	30	100	16	0	0	16	84
3	40	30	30	100	8	10	10	28	72
4	40	25	30	95	34	10	0	44	51
5	34	30	30	94	0	30	0	30	64
6	22	30	30	82	0	10	0	10	72
7	28	30	30	88	0	0	10	10	78
8	40	30	30	100	8	10	0	18	82
9	40	30	30	100	16	10	0	26	74
10	16	30	30	76	22	10	0	32	44
11	40	30	30	100	16	10	30	56	44
12	40	30	30	100	22	10	30	62	38
13	0	25	30	55	0	0	0	0	55
14	8	20	30	58	-	20	0	20	38
15	16	30	30	76	0	0	0	0	76

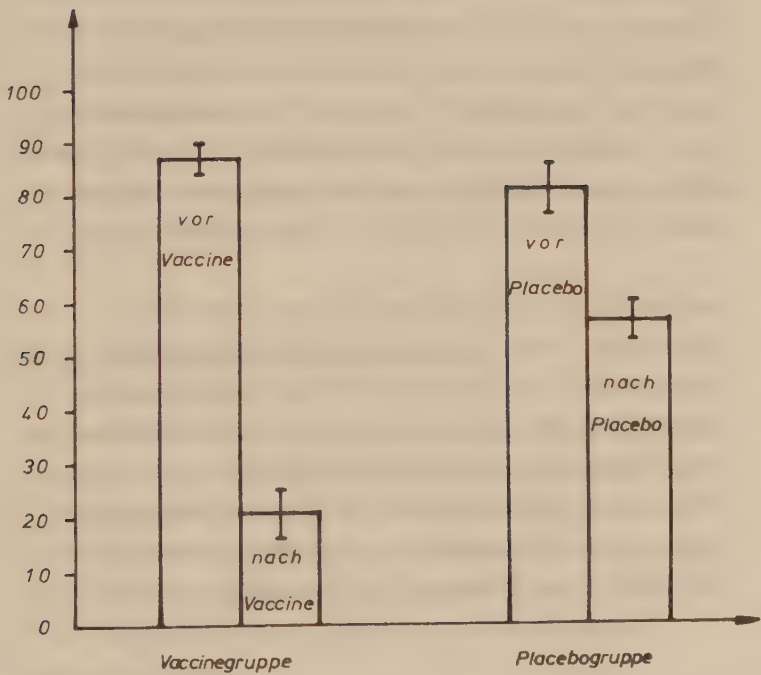
Tabelle 17.2

Punktevergleich der Vaccinepatienten und der Kontrollgruppe

Nr.	<u>Vor Behandlung</u>				<u>Nach Behandlung</u>				Δ vor/nach
	BKS	Rö	Fistel	Gesamt- punkte	BKS	Rö	Fistel	Gesamt- punkte	
16	28	25	30	83	0	10	10	10	73
17	34	30	30	94	8	0	0	8	86
18	34	30	30	94	0	Amp.	0	0	94
19	28	30	30	88	16	0	0	16	72
20	8	20	30	58	0	10	10	20	38
21	40	30	30	100	28	20	0	48	52
22	16	20	30	66	8	20	20	48	18
23	30	25	30	85	0	20	0	20	65
24	34	20	30	84	28	20	30	78	6
25	34	30	30	94	28	30	20	78	16
26	28	30	30	88	0	30	0	30	58
27	8	30	30	68	28	30	20	78	10
28	34	30	30	94	22	20	20	62	32
29	8	30	30	68	8	30	30	68	0
30	8	30	30	69	8	30	20	58	10

Abb. 9

Vergleich der Punktezahl von Vaccine- und Placebogruppe vor und nach Behandlung.
Die Säulenhöhe gibt die jeweilige Punktezahl an, gleichzeitig aufgetragen ist s_x .



D) DISKUSSION

Die Osteomyelitis ist eine Erkrankung mit ausgeprägter Rezidivneigung. Bisher ist es nicht gelungen, die Erkrankung therapeutisch vollkommen in den Griff zu bekommen. Den Ausdruck "Heilung" beim Sistieren der Krankheitserscheinungen anzuwenden, ist nicht gerechtfertigt (19). Vertretbar ist einzig die Bezeichnung "ruhende Infektion". Das beste Beispiel sind zahlreiche, zunächst als geheilt betrachtete Osteomyelitiden nach Kriegsverletzungen, die nach Jahren wieder zum Ausbruch kamen und heute noch häufig in den Kliniken anzutreffen sind. Es wird sogar von Fällen berichtet, bei denen nach 50- und sogar 80-jährigem erscheinungsfreien Intervall wiederum Osteomyelitisrezidive auftraten (15; 33).

Heutzutage ist die Grundlage jeglicher Therapie bei chronischer Osteomyelitis das radikal chirurgische Vorgehen (70; 130). Häufig führt aber dieses Vorgehen allein sowie die zusätzliche systemische Antibiotikaaanwendung nicht zum erhofften Erfolg (41).

Probleme bei der Antibiotikaaanwendung bestehen einerseits in der Schwierigkeit, ausreichende Konzentrationen in die durch Fibrosierung abgekapselten Infek-

tionsherde zu bringen, andererseits in der Zunahme der Keimresistenz, der Zunahme an Infektionen mit "Problemkeimen" wie Pyozyaneus oder Klebsiellen sowie dem Auftreten von Mischinfektionen (41; 51).

Der Versuch, den Verlauf von Osteomyelitiden anderweitig als mit bisher üblichen Methoden zu beeinflussen, ist, bedenkt man die Häufigkeit der Rezidivfälle und der ständig hinzukommenden neuen Osteomyelitiserkrankungen, durchaus gerechtfertigt.

In dieser Arbeit wurde der Versuch unternommen, durch Anwendung oraler, antibakterieller Autovaccine den Verlauf von chronischen, posttraumatischen Osteomyelitiden zu beeinflussen.

Bemerkungen zur oralen Antigenezufuhr

Auf eine parenterale Antigenezufuhr wurde in dieser Untersuchung bewußt verzichtet. Die Nachteile derselben bei intracutaner, subcutaner wie intramuskulärer Injektion sind bekannt: Erythembildung, Induration sowie schmerzhafte Abszesse im Bereich der Injektionsstellen sowie Fieberschübe bis hin zu schweren anaphylaktischen Reaktionen (1).

Von einem Impfstoff muß aber außer der Wirksamkeit auch Unschädlichkeit für den Patienten verlangt werden. Aus diesem Grund und aufgrund der noch folgenden Ausführungen wurde in dieser Untersuchung eine orale Antigenzufuhr angewandt. Es wurde zu diesem Zweck hitzeinaktiviertes Vollantigen verwendet. Jeder Patient erhielt seinen autologen Infektionskeim oral verabreicht.

Von der Vorstellung ausgehend, daß die Immunorgane des Darmtraktes eine Immunbarriere darstellen und den Körper lokal wie über eine systemische Immunreaktion vor Erregern schützen, wurde erwartet, daß durch zusätzliche Immunstimulierung des Organismus über eine enterale Antigenzufuhr die Abwehrlage der Osteomyelitispatienten gegenüber ihrer jeweiligen Infektion verbessert werden könnte.

Gegen orale Antigenzufuhr sprach lange die Meinung, daß das Antigen die Magenbarriere nicht unverändert passieren könne und damit wirkungslos wäre. Diese Ansicht ist aber revisionsbedürftig. Buchs (17) wies nach, daß nur etwa 7 - 22 % des in den Magen aufgenommenen Eiweißes enzymatisch gespalten werden und der Rest unverändert in den Dünndarm gelangt. Der Einwand, daß

enteral verabreichtes Antigen bereits bei der Magenpassage verändert und damit wirkungslos wird, ist damit hinfällig.

Eine Anzahl tierexperimenteller Arbeiten sowie auch Untersuchungen beim Menschen haben schon bewiesen, daß auch bei oraler Immunisierung ein Impferfolg zu erzielen ist (21; 25; 27; 36; 55; 57; 72; 95; 112; 116; 117; 121). Erfolgreich erwiesen sich vor allem die Impfergebnisse bei oraler Verabreichung von inaktiviertem Typhusimpfstoff (27; 94; 95; 96). Unbestritten in ihrer Wirkung ist die orale Poliovaccine (109).

Es existieren zwei Theorien, auf welchem Weg eine generelle Immunität bei oraler Antigenzufuhr erreicht wird. Die eine basiert auf der "Persorption" von Antigenen, also der Resorption ganzer bakterieller Antigene durch die Darmwand und deren Eindringen in die Blutbahn, die andere Theorie geht davon aus, daß das Antigen in direkten Kontakt gelangt mit den Lymphozyten der Peyerschen Plaques und der lamina propria der Darmmucosa und dadurch die Immunabwehr stimuliert.

1968 fand Volkheimer (125) heraus, daß Stärkekörner, also ganze korpuskuläre Elemente, die Darmwand in toto passieren können. Erstmals wurde das Phänomen der Persorption bereits schon früher, und zwar 1844

von Herbst (49) beschrieben, weswegen die Persorption manchmal auch als sogenannter "Herbsteffekt" bezeichnet wird. Der Mechanismus der Persorption wird dabei so verstanden, daß korpuskuläre Partikel, die sich im Darmlumen befinden, von der lumenwärtigen Seite der Zylinderzellen des Darmes in Vakuolen aufgenommen und in besagten Vakuolen durch die Darmepithelzellen geschleust werden, bis die Partikel in die abführenden Lymph- und Blutwege wieder entleert werden.

Seifert (104) wies nach, daß großmolekulare Proteine unverseht die Darmwand passieren können. Daß dieser Vorgang auch für ganze Bakterien möglich ist, wurde anhand von radioaktiv markierten *Salmonella typhimurium*-Keimen durch Uecker bewiesen (121). Die radioaktiv markierten Keime fanden sich nach oraler Verabreichung in der peripheren Blutbahn wieder.

Schlewinski (112) verfütterte lebende *Staphylokokkus aureus*-Keime an Ratten und Mäuse und bewies die Persorption der Keime durch den Nachweis positiver Blutkulturen in aus dem Schwanz der Mäuse entnommenen Blutproben, also durch das Auftreten einer Staphylokokkenbakteriämie nach Verfütterung lebender Keime.

Ebenfalls an Mäusen wurde von Funk (32) die Persorption so großer Mikroorganismen wie *Candida albicans* nachgewiesen.

Lietz (72) stellte bei oraler Verabreichung von inaktivierten Coli-Bakterien an Mäuse einen deutlichen Infektionsschutz fest. Orale Immunisierung an Mäusen und Affen mit inaktivierten *E. Coli*-Keimen ergab experimentell ebenfalls einen guten Infektionsschutz (25).

Von Hof (55) wurde eine orale *Bordetella pertussis*-Vaccine erfolgreich an Mäusen angewandt. Stickl (116) konnte bei Patienten mit *Acne vulgaris* durch orale Verabreichung einer Vaccine aus *Corynebakterien* eine Besserung erzielen.

Seit 15 Jahren werden in England im tiermedizinischen Bereich bereits orale Vaccinen angewandt. Es handelt sich hierbei zum Großteil zwar um virale Vaccinen, doch es wird erfolgreich auch eine orale bakterielle Vaccine aus *Escherichia Coli* bei Schweinen angewandt (30).

Hof (56) ist der Ansicht, daß die generelle Immunität nach oraler Vaccinierung durch den direkten Kontakt des Antigens mit den Lymphozyten der Peyerschen

Plaques und der lamina propria der Darmmucosa zustande kommt. Durch Stimulierung durch den Antigenkontakt werden diese zu immunkompetenten Lymphozyten umgewandelt, die in den zirkulierenden Lymphozytenpool eingeschleust werden und so eine generelle Immunität gegenüber dem Antigen bewirken können (55; 56).

Lefèvre sieht als Grundlage für die Entstehung einer generellen Immunität die Persorption der Mikroorganismen durch die Darmwand an und ihre Aufnahme in die Lymph- und Blutbahnen (69).

Die "Persorptionstheorie" und die direkte Lymphozytenstimulierung durch im Darmlumen befindliches Antigen schließen sich gegenseitig nicht aus. Es ist durchaus wahrscheinlich, daß die generelle Immunisierung bei enteraler Antigenezufuhr auf beiden beschriebenen Mechanismen basiert.

Als nichtparenterale Anwendungsform der Vaccine wäre auch die nasale oder rectale Applikation in Frage gekommen. Aber schon Raettig stellte bei seinen Versuchen mit *Salmonella typhimurium* fest, daß diese Anwendungsformen der oralen Immunogenapplikation unterlegen sind (94). Rectale Anwendung zeigte nicht die

gleiche Wirksamkeit, der Nachteil der nasalen Applikation liegt in der ungenauen Dosierungsmöglichkeit (79). Schlewinski bestätigte diese Erfahrung. Ihre Untersuchungen ergaben, daß oral mit Staphylokokkenvaccine geimpfte Tiere gegenüber einer nachfolgend gesetzten Infektion mit dem entsprechenden Keim besser geschützt waren als rectal geimpfte (112).

Bemerkungen zur Antigeninaktivierung

Die orale Anwendung von Lebendvaccine wurde schon einige Male untersucht und von einigen Autoren als wirkungsvoller als inaktivierte Vaccine bezeichnet.

So verglich Fontanges (27) inaktivierte und lebende Vaccine aus *Salmonella typhimurium* im Tierversuch und stellte für Lebendvaccine eine bessere Schutzwirkung bei nachfolgender Infektion fest.

Hornick (57) nahm bei Freiwilligen eine orale Vaccinierung mit lebender attenuierter Typhusvaccine vor und erzielte damit einen ausgezeichneten Impfschutz. Ähnliche Ergebnisse erzielten Collins (21) und Germanier (36).

Die Möglichkeit, daß durch Lebendvaccine ein besserer Infektionsschutz gewährleistet werden kann, wird nicht bestritten, doch ist vor allem tierexperimentell erwiesen, daß eine Schutzwirkung ebenso durch inaktiviertes Antigen erreicht werden kann (27; 95; 112; 116; 121).

In dieser Arbeit wurde auf die Verabreichung lebender Keime verzichtet.

Außer mit *Salmonella typhimurium* bestehen kaum Erfahrungen in der oralen Verabreichung lebender bakterieller Vaccinen beim Menschen. Bei der Vielzahl der Keime von Osteomyelitispatienten, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli*, *Proteus*, Klebsiellen usw. mußten erst zahlreiche Voruntersuchungen über jeden einzelnen Keim vorliegen, um ihn ohne weiteres verabreichen zu können. Nebenwirkungen wie etwa Vermehrung der Keime im Impfling, Diarrhoen, Ausscheidung pathogener Keime über den Darm mußten vorher geklärt werden, ebenso wie die Dosierungshöhe bei lebendem, infektiösem Keimmaterial.

Ein weiteres Problem wäre mit der Art der Verabreichung gegeben. Eine Aspiration lebender pathogener Keime bei

oralen Einnahme kann nicht ausgeschlossen werden und würde ein miteinzubeziehendes Risiko für die Patienten darstellen.

Die nächste Schwierigkeit bestünde in der Aufbewahrung und der Verabreichung von lebendem Keimmaterial auf chirurgischen Stationen.

Da eine Impfung aber nun einen Eingriff in den Körper des Patienten darstellt sowie im biologischen als auch im juristischen Sinn, muß das Impfrisiko sorgfältig abgewogen werden.

Aus diesen Überlegungen heraus wurde in dieser Untersuchung inaktiviertes Keimmaterial verwendet.

Raettig (95) ermittelte durch seine Untersuchungen, daß es sowohl durch chemische, wie thermische, wie auch durch Anwendung ionisierender Strahlen zu einer je nach Methode unterschiedlichen Denaturierung der Antigenstrukturen des verwendeten Keims kommt. Es muß bei jeder Art der Inaktivierung ein gewisser Wirkungsverlust der Antigenität hingenommen werden.

Die in dieser Arbeit verwendete Inaktivierung erfolgte durch Hitzeeinwirkung. Die thermische Inaktivierung des Keimmaterials erfolgt bei 64°C über eine Zeitdauer

von 90 Minuten. In mehreren Versuchsreihen hat Raettig (94; 96) festgestellt, daß Hitzeinaktivierung anderen Formen der Keiminaktivierung überlegen ist, sei es nun Formaldehyd, UV-Licht oder Dimethylsulfoxyd. Er bezeichnete "hocherhitztes Vollantigen" als besten Impfstoff, da Hitzeinaktivierung gegenüber den anderen genannten Methoden die schonendste und mit dem geringsten immunogenen Wirkungsverlust behaftet sei.

Bemerkungen zur Antigendosierung

Die Patienten erhielten eine Gesamt-Antigendosis von 6×10^{10} Keimen, gegeben in einer täglichen Menge von 10^9 Keimen über 60 Tage.

Die hier gewählte Antigenmenge entspricht einer "mittelhohen" Dosierung. Felsenfeld (25) verwendete zur oralen Vaccinierung bei Affen mit *Escherichia coli* eine tägliche Dosis von 10^9 Keimen über einen Zeitraum von 10 Tagen, bei Mäusen eine kleinere Antigenmenge von 10^8 .

Raettig (94) arbeitete bei Mäuseversuchen mit *Salmonella typhimurium* mit einer Gesamtdosis von 10^9 Keimen. Er stellte fest, daß die Schutzwirkung der Vaccine nicht direkt proportional zunimmt mit der Menge an Keimmaterial.

Ab einer bestimmten Dosishöhe fiel die Wirksamkeit nach seinen Untersuchungsergebnissen sogar wieder ab. Fontanges (27) arbeitete mit Keimdosierungen zwischen 10^7 und 10^8 Keimen bei der Maus, Hornick (57) und Germanier (36) wandten Keimdosen von 10^{10} beim Menschen an.

Bei der Verwendung des Präparats "Typhoral" beim Menschen empfiehlt die Herstellerfirma eine Gesamtdosis von 3×10^{11} Keimen.

Eine höhere Keimdosierung als die bei dieser Untersuchung gegebene von 6×10^{10} Keimen würde sich möglicherweise als wirksamer erweisen, doch sind bei Herstellung der Autovaccine auch technische Schwierigkeiten zu berücksichtigen. Bei der bisher pro Patient hergestellten Autovaccinemenge mußten 1 - 1,5 Liter keimbewachsener Bouillon aufbereitet werden; bei Antigengabe von 10^{12} Keimen und mehr täglich und eventuell zahlreicherer Patientenzahl mußten mehrere hundert Liter Nährbouillon verarbeitet werden.

Zu den Nebenwirkungen der oralen Autovaccine

Zu den Nebenwirkungen ist zu sagen, daß bei den hier untersuchten Patienten keine nachteiligen Erscheinungen beobachtet werden konnten. Nur zwei Patienten gaben

leicht vermehrte Darmtätigkeit an, was aber nicht als unangenehm empfunden wurde.

Bei keinem der Patienten kam es unter Vaccinebehandlung zu einer Verschlechterung des Krankheitsbildes oder etwa zu einer Verschlimmerung einer bestehenden Begleitkrankheit.

Die hier gegebene Form der Autovaccine ist relativ einfach anzuwenden, nicht belastend für den Patienten und frei von Nebenerscheinungen.

Zu den bakteriologischen Untersuchungsergebnissen

Wie schon aus dem Kapitel Keimverteilung zu entnehmen war, ist *Staphylococcus aureus* noch immer der am häufigsten vorkommende Keim bei osteomyelitischen Infektionen. In dieser Untersuchung steht er mit einer Häufigkeit von 45,2 % an erster Stelle, während *Pseudomonas* mit 15,4 % den zweiten Platz einnimmt, gefolgt von *E. Coli*, *Proteus*, *Klebsiella* und *Enterobacter*.

1973 berichteten Soeder und Willenegger (99) in einer Statistik über 203 Fälle von Knocheninfektionen mit 28,8 % *Pyocyaneus*beteiligung. Auch in ihrer Statistik steht *Staphylococcus aureus* an erster Stelle, an zwei-

ter *Pseudomonas aeruginosa*, dann *E. Coli*, *Streptococcus*, *Proteus* und *Enterococcus*.

1976 fanden Ring und Seifert (99) sowohl in Mono- als auch in Mischkulturen *Pseudomonas aeruginosa* als zweithäufigsten Erreger. Plaue und Hinz (90) weisen eine Aufzeichnung über Osteomyelitisinfektionen über einen Zeitraum von 15 Jahren auf. Aus dieser Statistik ist zu entnehmen, daß der prozentuale Anteil von *Pseudomonas aeruginosa* als Infektionskeim im Lauf der Jahre zunahm, von 13,2 % des Erregerspektrums im Jahre 54 bis 43,5 % im Jahre 68, während der Anteil von *Staphylococcus aureus* zunehmend geringer wurde, obwohl insgesamt letzterer Keim noch immer den ersten Platz bei osteomyelitischen Infektionen einnimmt. Die Autoren beobachteten, daß *Pseudomonas aeruginosa* beginnt, den bisher vorherrschenden *Staphylococcus aureus* vor allem in den Mischinfektionen zu verdrängen.

Zum Vergleich ist interessant, daß Philipowicz (88) 1935 noch über eine Beteiligung des *Staphylococcus aureus* an Osteomyelitisinfektionen von 80 % berichtet.

Auffallend bei den in dieser Arbeit vorkommenden bakteriologischen Befunden war die Tatsache, daß sämtli-

che isolierten *Pseudomonas*-Keime fakultativ anaerobes Wachstum aufwiesen. (Es wurde bei jeder Abstrichentnahme beim Patienten auch ein Thioglycollate-Medium mitgeführt, um etwaig vorkommende anaerobe Keime zu erkennen).

Dieser Befund steht im Gegensatz zur Darstellung Franklins (29), der nur von ganz vereinzelt vorkommendem anaerobem Wachstum bei *Pseudomonas aeruginosa* berichtet.

Zu den immunologischen Untersuchungsergebnissen

Immunglobulin G

IgG ist die Immunglobulinklasse, auf die der größte Anteil der Antikörper entfällt. IgG-produzierende Zellen werden überall angetroffen, wo Immunglobulinsynthese stattfindet. Zwischen Blut und extravaskulärer Flüssigkeit findet ein problemloser Austausch statt. IgG kann ohne weiteres biologische Membranen passieren und besitzt die Fähigkeit zur Komplementfixation (59).

Vor allem zur Neutralisation von Toxinen oder zum Schutz gegen Viren haben Antikörper der IgG-Klasse eine wesentlich höhere Wirksamkeit als die der IgM-Klasse (59).

Die IgG-Immunglobulinwerte bei den hier untersuchten Osteomyelitispatienten lagen insgesamt über dem Durchschnitt derer von Normalpersonen, wie zu erwarten. Hierholzer fand ebenfalls im Serum von 20 Osteomyelitispatienten über dem Durchschnittswert von gesunden Normalpersonen liegende IgG-Spiegel (52).

Über statistisch signifikant erhöhte IgG-Werte im Serum von 500 Osteomyelitispatienten berichtet Veys (124).

Die IgG-Erhöhung ist zu verstehen als Immunreaktion auf die chronische bakterielle Infektion, die bei Patienten mit Osteomyelitis vorliegt.

Eine signifikante Änderung der IgG-Spiegel im Serum konnte unter der hier vorgenommenen oralen Vaccinierung nicht beobachtet werden, was allerdings bei den bereits durch die chronische Infektion bedingten bereits pathologisch erhöhten Ausgangswerten nicht zu erwarten war.

Immunglobulin A

Es wurde das Serum-IgA der Patienten bestimmt. Es ist bekannt, daß bei parenteraler Antigenezufuhr die IgA-Spiegel im Serum steigen (81; 82; 47).

Bei enteraler Antigenezufuhr, wie sie in dieser Arbeit angewandt wurde, wird ebenfalls vermehrt IgA gebildet, allerdings das sogenannte s-IgA, sekretorisches IgA, das nicht zu einer Erhöhung der IgA-Konzentration im Serum führt, sondern im Darmlumen erscheint. IgA ist das Hauptimmunglobulin einer Reihe von Sekreten wie Tränenflüssigkeit, Nasenschleim, Speicheldrüsensekret und wird auch in das Dünndarmlumen sezerniert.

Die Bedeutung des s-IgA zur lokalen Abwehr von Viren und Toxinen sowie zum Schutz der Mucosa gegenüber Bakterien ist erwiesen (18, 59).

IgA ist in den genannten Sekreten in wesentlich höherer Konzentration vorhanden als im Serum (50; 59; 119).

Vom Serum-IgA unterscheidet sich das s-IgA insofern, als es vorwiegend in dimerer Form vorliegt und zusätzlich eine sekretorische Komponente (90c) aufweist, "SC" genannt und auch die sogenannte "J-chain" (14; 18; 45; 59; 108). 80 bis 90 % des Serum-IgA hingegen liegen als Monomer vor (122).

Eine Erhöhung des s-IgA nach oraler Antigenezufuhr ist erwiesen (25).

Bei oraler Antigenezufuhr werden zunächst immunkompetente Lymphozyten der Peyerschen Plaques sensibilisiert durch

den Kontakt mit dem Antigen. Diese sensibilisierten Lymphozyten gelangen über die abführenden Lymphwege und den ductus thoracicus in den Blutkreislauf und wieder zurück in die lymphatischen Gewebe des Darms. Auf diesem Weg machen die Lymphozyten eine Art Reifungsprozeß durch und differenzieren sich, in der lamina propria des Dünndarms angelangt, zu Plasmazellen. Am häufigsten davon sind IgA-produzierende Plasmazellen. Durch Kopplung an die sogenannte "J-Chain", ein Polypeptid, entstehen IgA-Dimere. Diese Dimere verbinden sich dann mit der "SC"-Komponente. (Die Untersuchungen darüber, ob diese "SC"-Komponente bereits in den Darmzellen oder erst im Darmlumen angelagert wird, differieren noch). (14; 85; 108).

Die Bestimmung des s-IgA bei den hier untersuchten Patienten, die mit oral verabreichtem bakteriellen Antigen in Kontakt kamen, wäre interessant gewesen. Die aufwendige und regelmäßige Untersuchung der Dünndarm-inhalte der Patienten wäre allerdings den Patienten schlecht zuzumuten gewesen und wäre überdies über den Rahmen dieser Arbeit hinausgegangen.

So wurde die Untersuchung über IgA bei oraler Immunisierung auf das Serum-IgA beschränkt. Wie zu erwarten, stiegen unter der Vaccinegabe die Serum-IgA-Spiegel rechnerisch nicht signifikant an.

IgM

Antikörper vom IgM-Typ werden vor allem im Blutstrom angetroffen. Wegen ihres hohen Molekulargewichts können sie normalerweise nicht durch die Kapillärwände austreten.

Die IgM-Struktur ist darauf ausgerichtet, eine Schutzwirkung gegen große Antigene zu leisten, die auf ihrer Oberfläche ein Mosaik sich wiederholender Determinanten aufweisen, z.B. O-Antigene der bakteriellen Zellwand (59). Daß durch orale Immunisierung im Darm außer IgA- auch IgM-produzierende Zellen gebildet werden, ist bekannt (2; 14; 18).

Bei den hier untersuchten Osteomyelitispatienten lagen die IgM-Ausgangswerte vor Vaccinierung an der oberen Normgrenze. Untersuchungsergebnisse von Hierholzer (52) an Osteomyelitispatienten bestätigen dies.

Während der Vaccinierung zeigten die IgM-Spiegel im Serum einen doppelgipfligen Verlauf. Dieser zweigipflige Verlauf der IgM-Titer wurde auch von Werner (129) bei Untersuchungen über enterale Antigengabe beobachtet. Werner wies durch die sogenannte Jerne-Technik IgM-produzierende Zellen in der lamina propria des Intestinums nach, die nach enteraler Immunisierung biphasisch erscheinen, wogegen nach parenteraler Immunisierung nur ein einmaliger Anstieg gefunden wird. Am 7. Tag der Antigengabe wurde ein Anstieg der sogenannten "plaque-forming-cells" und der IgM-Spiegel gefunden, und zwar sowohl bei enteraler wie parenteraler Antigenzufuhr. Im Gegensatz zur parenteralen Immunisierung wurde aber bei der enteralen Immunisierung am 18./19. Tag ein zweiter Anstieg an IgM-produzierenden Zellen gefunden. Nach Werner (129) enthält die lamina propria des Darmes zwei verschiedene IgM-produzierende Zellpopulationen, wovon die eine oral oder parenteral stimuliert werden kann, was einen frühen IgM-Anstieg zur Folge hat, wogegen die andere nur auf eine Antigenstimulation vom Darmlumen her reagiert. Der in dieser Arbeit gefundene biphasische IgM-Kurvenverlauf wäre also typisch für eine enterale Antigenexposition.

Immunglobulin E

Ausgesprochen auffallend bei der Untersuchung der IgE-Spiegel der Patienten war die Tatsache, daß sich beim Vergleich der IgE-Werte derjenigen Patienten, bei denen Besserung festgestellt werden konnte, mit den Werten derjenigen Patienten, deren Krankheitsbild sich nicht oder wenig besserte, ergab, daß bei ersteren mehrfach normale IgE-Spiegel gefunden wurden, während bei letzteren in der Regel pathologisch erhöhte Werte auftraten. (Dieser Vergleich wurde rechnerisch gesichert mit der Vierfeldertafel nach Fisher).

Insgesamt änderten sich die IgE-Spiegel nicht unter der Vaccinetherapie. Die gemessenen Werte vor und nach der Behandlung ließen keine signifikanten Änderungen erkennen.

Es wäre nun möglich, daß die erhöhten IgE-Werte einiger Patienten eine Art bakterieller Infektionsallergie widerspiegeln (43). D.h., daß bei diesen Patienten eine übersteigerte Immunantwort des Organismus vorliegt. Die Tatsache, daß gerade bei diesen Patienten keine Besserung durch orale Vaccinegabe zu erreichen war, könnte

vermuten lassen, daß bei Patienten mit normergischer Ausgangslage, also mit normalen IgE-Spiegeln, durch den zusätzlichen antigenen Stimulus der oralen Vaccination die Abwehrlage durchaus gestärkt werden kann, während bei denjenigen Patienten mit hyperergischer Reaktionslage durch eine erneute Stimulation kein entsprechender Erfolg erzielt werden kann.

Möglicherweise liegt bei den Patienten mit allergischer Reaktionslage eine Art Autoimmunphänomen vor, hervorgerufen durch die chronische bakterielle Infektion mit dem dazugehörigen Gewebsuntergang. Antikörper gegen ultrazentrifugiertes Wundsekret von Osteomyelitispatienten wurden von Ring nachgewiesen (97).

Von der in dieser Untersuchung gemachten Beobachtung ausgehend, daß nämlich die Patienten mit normalen IgE-Spiegeln bessere Heilerfolge aufwiesen, als solche mit erhöhten IgE-Spiegeln, mußte angenommen werden, daß die orale Vaccinierung nicht, wie schon öfter vermutet (28; 117), im Sinne einer Desensibilisierung wirkt, sondern im Sinne einer Immunpotenzierung.

Zum AStal-Titerverlauf

Zehn der untersuchten Osteomyelitispatienten, die orale Vaccine erhielten, wiesen floride Staphylococcus-aureus-Infektionen auf. Sechs dieser Patienten zeigten als Ausgangswerte vor Vaccinierung über die Norm erhöhte AStal-Titer.

Der normale AStal-Titer, der auch bei Personen ohne zur Zeit bestehende Staphylococcus-Infektion festgestellt wird, liegt nicht über 2 E/ml. Die als erhöht bezeichneten Werte lagen also über dieser Grenze.

Beim Vergleich der Werte vor und nach Vaccinierung mit Staphylococcus aureus-Vaccine konnte rechnerisch keine Signifikanz festgestellt werden.

Was die Korrelation der Ausgangs-AStal-Titer bezüglich des Heilungserfolgs betrifft, so war festzustellen, daß von den Patienten mit über die Norm erhöhten Ausgangstitern, insgesamt 6 von 10, vier nur eine Punkteverbesserung von unter 70 Punkten erreichten, während alle vier Patienten mit normalen AStal-Titern eine Punktezahlverbesserung von über 70 aufwiesen.

Im Durchschnitt zeigten die Patienten mit erhöhten Ausgangstitern nach Vaccinierung eine Punkteverbesserung von 61,2, während sich für die Patienten mit normalem Ausgangstiter eine durchschnittliche Punkteverbesserung von 76,5 errechnete.

Die Ansichten darüber, ob erhöhte AStal-Titer eine Aussage zulassen über die weitere Prognose einer osteomyelitischen Erkrankung bzw. erhöhte Ausgangstiter eine günstigere Ausgangsbasis darstellen als normale oder erniedrigte Titer, differieren bei den verschiedenen Autoren.

So sind einige der Ansicht, daß ein erhöhter Titer einen günstigen Heilungsverlauf erwarten läßt, andere wiederum negieren dies (39; 59; 65; 92).

Daß erhöhte Titer eine günstigere Ausgangslage für osteomyelitische Erkrankungen darstellen, kann anhand der hier vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt werden.

Zur Bakterienagglutination

Vor, während und nach Behandlung mit Autovaccine wurden im Patientenserum die Agglutinationstiter gegen den jeweiligen Infektionskeim bestimmt, aus dem auch die

Autovaccine hergestellt wurde. Es wurde nur die O-Agglutination durchgeführt. O-Agglugene sind im Bakterienleib verankerte thermostabile Antigene, im Gegensatz zu den thermolabilen H-Agglutinen, den Geißelantigenen (44; 61).

H-Agglutination kommt nur bei begeißelten Bakterien vor, wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa*.

Durch die Bakterienagglutination nach Widal kann der Nachweis spezifischer humoraler Antikörper erbracht werden, ein erhöhter Bakterienagglutinationstiter stellt eine ausgesprochen spezifische Immunantwort dar.

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurde festgestellt, daß bereits vor enteraler Vaccinegabe spezifisch erhöhte Agglutinationstiter bei den Patienten vorlagen.

Die Ausgangswerte entsprachen in etwa den von Williams (131) gefundenen, der Vergleichsuntersuchungen an Osteomyelitispatienten und gesunden Normalpersonen vornahm. Williams bestimmte die Serumagglutinationstiter von 20 Osteomyelitispatienten gegen ihre jeweils autologen Keime. Die Titer gegen *Staphylococcus aureus*

schwankten im Bereich von 5 - 10 ($\log_2$ Angabe), also zwischen 1/32 und 1/1024, gegen *Pseudomonas aeruginosa* zwischen 7 - 9, entsprechend 1/128 und 1/512, gegen *E. Coli* (nur ein Patient) belief sich der Titer auf 10, entsprechend 1/1024, gegen *Proteus mirabilis* auf 7, entsprechend 1/128. Die Untersuchungen von Williams ergaben, daß das Serum von gesunden Kontrollpersonen gegen die jeweiligen Keime der Patienten im Vergleich wesentlich geringere Titer aufwies als das Serum der Patienten selbst. Lietz (72) verglich die Titer von Osteomyelitispatienten mit Coli-Infektionen mit den Titern gesunder Personen gegen den gleichen Keim und stellt ebenfalls eine spezifische Titererhöhung bei der Patientengruppe fest.

Die Ausgangsbasis bei den hier untersuchten Patienten war eine bereits vorhandene spezifische Serumtitrerhöhung gegen den jeweiligen Infektionskeim. Während der Antigenezufuhr auf oralem Weg konnte ein nochmaliger leichter Anstieg der Bakterienagglutinationstiter erreicht werden. (Es ergab sich rechnerisch allerdings keine Signifikanz).

Es ist bekannt, daß enterale Antigenezufuhr nicht so konstant und regelmäßig einen meßbaren Anstieg spezi-

fischer Agglutinine zur Folge hat wie parenterale Antigenzufuhr (72; 95).

Die Tatsache, daß bei bereits erhöhtem Ausgangstiter durch orale Vaccine ein zusätzlicher, wenn auch geringer Titeranstieg bewirkt werden kann, bedeutet, daß die spezifische humorale Immunreaktion durchaus durch enterale Antigenzufuhr zusätzlich stimuliert werden kann.

Abschließende Bemerkungen zu den immunologischen Untersuchungen

Die Beurteilung der Wirksamkeit enteraler Antigenzufuhr anhand immunologischer Daten ist schwieriger, als dies bei parenteraler Vaccinierung der Fall wäre. Noch komplizierter ist die immunologische Deutung bei der vorliegenden Untersuchung, in der man es mit einer bereits vorhandenen schwelenden Infektion zu tun hat, also nicht mit einer normalen immunologischen Ausgangslage gerechnet werden kann.

In dieser Untersuchung wurden einmal die Agglutinationstiter der Patientenserum gegen den autologen Infektions-

keim gemessen, als Nachweis für das Vorliegen einer spezifischen humoralen Immunität. Der leichte Anstieg der Titer unter Vaccinierung spricht dafür, daß auch bei bereits vorhandenem erhöhtem Ausgangstitel eine zusätzliche Steigerung der Immunität erreicht werden kann.

An Immunglobulinen wurden IgG, IgA, IgM und IgE im Serum bestimmt. Bezüglich des IgG ergaben sich bereits vor Vaccinierung pathologisch erhöhte Blutspiegel aufgrund der chronischen bakteriellen Infektion. Eine signifikante Änderung der Serumspiegel unter der Vaccinegabe konnte nicht festgestellt werden. IgA wurde, wie schon erwähnt, aus Gründen des beträchtlichen Untersuchungsaufwandes und um die seit Monaten erkrankten und hospitalisierten Patienten nicht übermäßig zu belasten, nur im Serum bestimmt und nicht im Dünndarminhalt, wobei letzteres ohne Zweifel aussagekräftiger gewesen wäre. Die Änderung der IgA-Konzentration im Serum während Vaccinierung war rechnerisch nicht signifikant, ein Anstieg des Serum-IgA war auch vom immunologischen Geschehen her nicht zu erwarten gewesen.

Der in dieser Arbeit festgestellte, auffallende biphasische Verlauf der IgM-Konzentrationen im Serum bei Vaccinierung ist typisch für eine enterale Antigenzufuhr und wurde auch von anderen Autoren nachgewiesen (Werner, Felsenfeld). Der erreichte IgM-Anstieg ist zur weiteren Bekämpfung bakterieller Antigene im Organismus als sicher vorteilhaft zu betrachten.

Was das Serum-IgE betrifft, so konnte festgestellt werden, daß die Patienten mit normalen Ausgangskonzentrationen bessere Heilerfolge aufwiesen als diejenigen mit pathologisch erhöhten Werten, so daß angenommen werden kann, daß die orale Vaccinierung im Sinne einer Immunpotenzierung und weniger im Sinne einer Desensibilisierung wirkt.

Die häufiger in der Literatur postulierte Vermutung, daß erhöhte AStAL-Ausgangstitel eine günstigere Prognose für den Verlauf einer osteomyelitischen Erkrankung darstellen, konnte in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden.

Zur Punktebewertung des klinischen Verlaufs

Die immunologischen Untersuchungen bei enteraler Vaccinierung ergeben zwar interessante Aspekte, sind aber kein ausreichendes Kriterium für den klinischen Erfolg der oralen Antigenzufuhr. Um die Beeinflussung des klinischen Verlaufs einigermaßen objektiv beurteilen zu können, wurden meßbare klinische Parameter einem Punktschema zugeteilt (28; 98).

Als klinische Parameter wurden herangezogen:

1. Die BKS, da die Senkungsreaktion einen routinemäßig üblichen und leicht reproduzierbaren Laborwert darstellt. Ein akuter infektiöser Schub geht bei allen Patienten mit einer Senkungserhöhung einher. Auch im Verlauf einer osteomyelitischen Erkrankung ist die BKS ein Parameter für die Aktivität der Infektion (42; 47; 53; 58; 74; 82; 97; 123).
2. Röntgenbefunde. Anhand der Röntgenbefunde können Sequester, Osteolyseherde, Kalksalzminderung und Vermehrung sowie knöcherne Durchbauung festgestellt werden. Röntgenbefunde sind allerdings erst nach längerer Beobachtungszeit von Bedeutung, da z.B. eine vermehrte oder verminderte Mineralisation

röntgenologisch erst gesehen werden kann, wenn sie bereits abgelaufen ist (19).

3. Die äußeren Fistelverhältnisse wurden zur Beurteilung herangezogen, da sie gut sichtbar und objektiv eine bestehende Osteomyelitis erkennen lassen bzw. auch Kriterien für eine "ruhende Osteomyelitis" sind. Ein Rezidiv geht einher mit erneutem Fistelaufbruch.

Diesen klinischen Parametern wurden nun jeweils Punkte zugeordnet, so daß von jedem Patienten eine bestimmte Punktzahl vor Behandlung vorlag sowie nach Behandlung. Anhand der Änderung der Punktezahl kann eine Besserung oder Verschlechterung im klinischen Bild abgelesen werden.

Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse nach der Punkteskala ergab für die Patienten, die mit Autovaccine behandelt worden waren, einen wesentlich ungünstigeren klinischen Verlauf als für die Patienten der Placebogruppe. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen erwies sich als statistisch hochsignifikant ($p < 0,0005$).

Abschließend ist zu sagen, daß die orale Autovaccinetherapie bei Osteomyelitispatienten gedacht ist als

zusätzliche Therapie zur sonst üblichen und notwendigen chirurgischen Behandlung.

Durch die Vaccinetherapie soll versucht werden, einen erfahrungsgemäß langwierigen Krankheitsverlauf abzukürzen und die häufige Invaliditätsrate bei dieser Erkrankung vermindern zu helfen.

Ein hundertprozentiger Therapieerfolg darf und kann nicht erwartet werden, doch ist es durchaus als Erfolg zu werten, wenn es gelingt, durch die zusätzliche Therapie mit oraler Autovaccine einen gewissen Prozentsatz an Osteomyelitispatienten aus dem floriden Stadium der Infektion in das Stadium der ruhenden Infektion zu überführen, was mit dieser Arbeit gezeigt werden konnte.

Abgesehen von der chronischen Osteomyelitis ist es vorstellbar, daß auch bei anderen chronischen Infektionen die Verabreichung entsprechender bakterieller Vaccinen zur Krankheitstherapie beiträgt.

Darüber hinaus wäre die wichtigste Anwendung einer bakteriellen Vaccine in der Prophylaxe zu sehen; eine solche wäre höchst erstrebenswert bei stark erhöhtem postopera-

tivem Infektionsrisiko, wie es z.B. bei Darmtumoren im fortgeschrittenen Stadium gegeben ist.

Insgesamt wäre zu wünschen, daß die Anwendung von Auto-vaccine im therapeutischen medizinischen Bereich eine breitere Anwendung fände, da bewiesenermaßen die Infektionsrate dadurch singifikant gesenkt werden kann.

E) ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde der Versuch unternommen, durch die Gabe von oraler Autovaccine den Verlauf der Erkrankung von Patienten mit chronischer posttraumatischer Osteomyelitis positiv zu beeinflussen.

Insgesamt wurden 30 Patienten untersucht. 20 davon wurden mit Autovaccine behandelt, 10 Patienten erhielten zur Kontrolle Placebopräparate.

Die hitzeinaktivierte Autovaccine wurde 60 Tage lang oral verabreicht in einer Keimdosierung von 10^9 per diem, im gleichen Rhythmus erhielt die Kontrollgruppe Placebopräparate.

Bei allen Patienten wurden vor, während und nach der Behandlung bzw. Placebogabe folgende immunologische Daten bestimmt:

Bakterienagglutinationstiter gegen den Autovaccinekeim, Immunglobulin G, Immunglobulin A, Immunglobulin M, Immunglobulin E im Serum sowie der Antistaphylolysin-titer.

An sonstigen Laborparametern wurden Elektrophorese, BKS-Werte und Leukozytenzahlen bestimmt.

Zur Beurteilung des klinischen Verlaufs wurden die Parameter BKS, Fistelverhältnisse und Röntgenbefunde herangezogen und in ein Punktebewertungsschema eingeteilt. Durch diese Punktezuteilung ist es möglich, eine Veränderung im klinischen Verlauf durch eine entsprechende Punktezahländerung festzustellen bzw. Vergleiche zwischen Vaccinegruppe und Kontrollgruppe zu objektivieren.

Es konnte bei keinem der Patienten eine Nebenwirkung der Autovaccine festgestellt werden, sie wurde von allen Patienten ausgezeichnet toleriert.

Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse:

- Die Bakterienagglutinationstiter der einzelnen Patienten waren bereits vor Vaccinierung spezifisch erhöht. Es konnte durch Vaccinierung eine geringe zusätzliche Erhöhung erreicht werden.
- Immunglobulin G zeigte vor Vaccinierung bereits pathologisch erhöhte Werte, es ergab sich unter

Vaccinetherapie keine signifikante Änderung der Serumspiegel.

- Die Bestimmung des Immunglobulin A im Serum ergab im Normbereich liegende Ausgangswerte sowie keine signifikante Änderung während der Vaccinierung.
- Die Bestimmung der IgM-Werte ergab an der oberen Normgrenze liegende Ausgangswerte vor Vaccinierung sowie einen biphasischen Anstieg der Spiegel während der Vaccinegabe.
- Das Immunglobulin E lag bei einigen Patienten im Normbereich, bei anderen waren die Werte pathologisch erhöht. Die Ergebnisse zeigten, daß diejenigen Patienten mit erhöhten Werten geringere Heilerfolge aufwiesen als diejenigen mit normalen Ausgangswerten.
- Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse nach der Punkteskala ergab für die Vaccinepatienten einen wesentlich günstigeren klinischen Verlauf als für die Kontrollgruppe. Der Unterschied zwischen Vaccine- und Kontrollgruppe erwies sich als statistisch hochsignifikant mit $p < 0,0005$.

Insgesamt ist die Autovaccinetherapie bei osteomyelitischen Erkrankungen als günstig zu beurteilen. Durch die enterale Antigenezufuhr kann eine zusätzliche Immunstimulierung des Organismus erzielt werden. Die orale Vaccinegabe kann zusätzlich zur notwendigen chirurgischen Behandlung als nebenwirkungsfreie, die immunologische Abwehr steigernde, krankheitsverkürzende Zusatztherapie betrachtet werden.

F) LITERATURVERZEICHNIS

1. ALEXANDER, J.W., FISHER, M.W.

Immunisation against Pseudomonas Infection after
Thermal Injury

J. Infectious Diseases 130 (1974), 152 - 158

2. ALLEN, W.D., PORTER, P.

The relative distribution of IgM and IgA cells in
intestinal mucosa and lymphoid tissues of the young
unweaned pig and their significance in ontogenesis
of secretion immunity

Immunology 24 (1973), 493 - 501

3. ARTENSTEIN, M.S.

Antibacterial aspects of local immunity

In: NETER E. Infections Diseases, S. Karger, Basel 1975

4. AUSTIN, L., JOYNER, M.D.

Acute staphylococcus osteomyelitis

The use of staphylococcus antitoxin as aid to
management of toxemia and staphylococcemia

Surg. Gynec. and Obst. 63 (1936), 1 - 5

5. BAER, W.

The treatment of chronic osteomyelitis with the
maggots

J. Bone Surg. 13 (1931)

6. BAKER, L.D., SHANDS, A.R.
Akute Osteomyelitis mit Staphylokokkämie.
Ein klinischer Bericht über die Anwendung von
Antitoxin.
J. Amer. Med. Assoc. 113 (1939), 2119 - 2124
7. BAZIN, H.C., HEREMANS, J.F.
Réponses immunologiques induites par voie orale
Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 124 C (1973), 253
8. BECKER, W., RAPP, W., SCHWICK, H.G., STÖRIKO, K.
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasma-
proteinen durch Immunpräzipitation
Z. Klin. Chemie u. Klin. Biochemie 6 (1968), 113 - 224
9. BEDACHT, R., PÖSCHL, M.
Die chronische Osteomyelitis - Diagnose und Therapie
MUnchn. Med. Wschr. 113 (1971), 524
10. BESREDKA, A.
Die lokale Immunisierung spezifischer Verbände
J.A. Barth Verlag, Leipzig 1926
11. BIKFALVI, A., ECKE, H.
Die Behandlung der chronischen Osteomyelitis mit
der Eigenblut-Antibiotika-Plombe
Bruns Beitr. klin. Chir. 201 (1966), 190 - 207

12. BISCHOFBERGER, C.

Das Krankheitsbild der chronischen Osteomyelitis,
Ursache, Behandlung und Folgezustände
Zschr. f. Orthop. 84 (1954), 234

13. BORSALINO, G.

Su un caso di osteomielite ematogena cronizzata
risolto con autovaccino
Minerva ortop. 22 (1971), 23 - 30

14. BRANDTZAEG, P.

Intestinal secretion of IgA and IgM: a hypothetical
model
Ciba Foundation Symp. 46
Excerpta Medica, North Holland Publishing Comp.
Amsterdam 1979, 77 - 112

15. BRECK, L.W.

Chronic osteomyelitis with intervall of fifty
years between acute attacks
Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic 12 (1937), 139 - 143

16. BREUEL, H.P.

Lokale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen
Mikroorganismen oder ihren Antigenen
Literaturdok. Reihe H.F.
Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart 1969

17. BUCHS, S.

Das ungelöste Problem der Eiweißspaltung im Magen
Dtsch. Med. Wschr. 98 (1973), 1372 - 1376

18. CEBRA, J.J., KAMAT, R., GEBHART, P.

The secretory IgA system of the gut
Ciba Foundation Symp. 46
Excerpta Medica, North Holland Publishing Comp.
Amsterdam 1979, 5 - 28

19. BURRI, C.

Posttraumatische Osteitis
Aktuelle Probleme in der Chirurgie
Bd. 18, Huber, Bern-Stuttgart, Wien 1974

20. CLAWSON, D., KAY, M.D., et al

Treatment of chronic osteomyelitis with emphasis
on closed-suction-irrigation technic
Clin. Orthop. 96 (Oct. 1973), 88 - 97

21. COLLINS, F.M., CARTER, P.B.

Comparative immunogenicity of heatkilled and
living oral Salmonella vaccines
Infect. Immun. 6 (1972), 451 - 458

22. DELREZ, L., GRÉGOIRE, R.
Séro - et vaccinothérapie dans les affections
osteoarticulaires
30. Congr. franc. de chir., Strasbourg, 3.-5.X.1921
Presse méd. 29, no. 79 (1921), 789 - 750
23. DELREZ, M.L., GRÉGOIRE, R.
Discussion des rapports sur la séro-et vaccinothérapie
dans les affections ostéo-articulaires
Presse méd. 29, no. 81 (1921), 806 - 808
24. EHRLICH, P.
Experimentelle Untersuchung über Immunität. I
Dtsch. Med. Wschr. 12 (1891), 976 - 991
25. FELSENFELD, O.
Standardization of Escherichia Coli oral vaccines
Develop. biol. Standard. 33, 113 - 117
S. Karger, Basel 1976
26. FENNER, C., HAUS, O.
Erfahrungen mit dem antiseptischen Serum Antisepton
J.H. Ganslmayer 600
Zahnärztl. Rundschau, 51 (Berlin 1942), 503 - 508

27. FONTANGES, R., IVANOFF, B., CREACH, O.
Compared efficiency of a killed vaccine of *Salmonella*
typhimurium, a live vaccine and an antigenic fraction
in oral immunization of mice
Develop. biol. Standard. 33 (1976)
S. Karger, Basel 1976
28. FRENZEL, U.
Untersuchungen an Patienten mit chronischer post-
traumatischer Osteomyelitis
Inaug. Diss., München 1976
29. FRANKLIN, M., FRANKLIN, M.A.
Pseudomonas, ein bakteriologisches Profil
Beechmann Pharma Mainz-Weisenau
Verlag Rheindruck Boppard (1973)
30. FRERICHS, G.N.
Non-parenteral vaccines for veterinary use in the
United Kingdom
Develop. biol. Standard., 33, 47 - 53
S. Karger, Basel 1976
31. FRIEDRICH, B., ROMEN, W.
Biomechanische Stabilität und posttraumatische
Osteomyelitis
Helv. chir. Acta 42 (1975), 31 - 33

32. FUNK, J.

Tierversuche zur oralen Impfung mit hitzeinaktivierten
Fungi (*Candida albicans*)
Inaug. Diss., Berlin 1969

33. GALLIE, W.E.

First recurrence of osteomyelitis eighty years after
infection
J. Bone a. Joint. Surg. 33-B (1951), 110 - 111

34. GANSLMAYER, I.H.

Serotherapie und Simultanimpfung bei den Eiterungen
der Menschen und der Tiere
Berl. und Münchn. tierärztl. Wschr. 38 (1940), 453 - 456

35. GANSLMAYER, I.H.

Bakteriologisch-serologische Bemerkungen
Zahnärztl. Rd.schau 51, Berlin 1942, 508

36. GERMANIER, R.

Vaccination against typhoid fever with a live
oral vaccine
Develop. biol. Standard. 33, 85 - 88
S. Karger, Basel 1976

37. GLEICHMANN, E., DEICHER, H.

Quantitative Immunglobulinbestimmungen im Serum
bei entzündlichen Lebererkrankungen
Klin. Wschr. 46 (1968), 171 - 176

38. GROSS, H.

Ist eine geeignete Serumtherapie der Osteomyelitis
möglich und erfolgversprechend?
Z. Immunforschung 79 (1933), 454 - 457

39. GROSS, H.

Über die Brauchbarkeit und den diagnostischen Wert
der Antistaphylolysin-Reaktion
Klin. Wschr. 12 (1933), 907 - 908

40. GRUNDMANN, G.

Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der
Osteomyelitis
Langenbecks Arch. Dtsch. Z.Chir. 277 (1953) 117 - 142

41. HAAN, R.

Heutige Aspekte in der Behandlung der akuten
hämato-genen Osteomyelitis
Z. Bl. Chir. 50 (1967)

42. HAFERKAMP, P.

Anatomie und Immunologie von Infektabwehr und
Resistenz

Dtsch. Med. Wschr. 99 (1974), 203 - 209

43. HAHN, H.

Zelluläre antibakterielle Immunität

Dtsch. Med. Wschr. 99 (1974), 651 - 656

44. HALLMANN, L.

Bakteriologie und Serologie

G. Thieme Verl. Stuttgart 1974

45. HALPERN, M.S., KOHLAND, M.E.

Novel subunit in secretory IgA

Nature 228 (1970), 1276 - 1278

46. HAMBLÉN, D.C.

Hyperbaric oxygenation: its effect on experimental
staphylococcal osteomyelitis in rats

J. Bone a. Joint Surg. 50 (1968), 1129 - 1141

47. HEINRICH, G.

Bedeutung des Blutbildes und der BKS bei chron.
eitriger Osteomyelitis

Münchn. Med. Wschr. 91 (August 1944)

48. HENNING, H., SEDEFORT, H.
Fraktionierung der Immunglobuline des Serums Leber-
kranker mittels der einfachen radialen Immundiffusion
Med. Klin. 69 (1974), 1587 - 1592
49. HERBST, G.
Das Lymphgefäßsystem und seine Verrichtungen
Göttingen 1844
50. HEREMANS, J.F., VAERMAN, J.P.
Biological significance of IgA antibodies in serum
and secretions
Progress in Immunology I (First international Congress
of Immunology)
Academic Press, New York (1971), 875 - 890
51. HIERHOLZER, G., REHN, J.
Zur Indikation einer zusätzlichen antibiotischen
Therapie bei der chronischen Knocheninfektion
Sonderdruck: Tagg. d. mittelhhein. Chir. Vereinigung
in Homburg/Saar 1966, 6. - 8. Oktober
52. HIERHOLZER, G., REHN, J.
Immunglobulinbestimmungen bei der posttraumatischen
Osteomyelitis
Unfallchirurgie 1 (1975), 105 - 106

53. HILL, J., PITKOW, H.S., DAVIS, R.H.
The pathophysiology of Osteomyelitis
J. Am. Ped. Assoc. 67 (1977), 687 - 690
54. HITZIG, W.H.
Plasmaproteine, Pathophysiologie und Klinik
Springerverl. Berlin-Heidelberg-New-York 1977
55. HOF, H., FINGER, H., KÖRNER, L.
Effectiveness of orally administered Bordetella
pertussis vaccine in mice
Develop. biol. Standard. 33, 47 - 53
S. Karger, Basel 1976
56. HOF, H., FINGER, H.
Zur Entstehung der generellen Immunität nach oraler
Aufnahme von abgetöteten Pertussisbakterien
Zbl. Bakt. I Orig. A 227 (1973), 282 - 288
57. HORNICK, R.B., DUPONT, H.L.
Efficacy of a live oral typhoid vaccin in human
volunteers
Develop. biol. Standard. 33, 89 - 92
S. Karger, Basel 1976

58. HÜNER, H.
Zur Ätiologie und Therapie der akuten hämatogenen
Osteomyelitis
Verh. Dtsch. Orth. Ges. 51 Kongr. (1965), 190 - 194
59. HUMPHREY, J.H., WHITE
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
G. Thieme Verl. Stuttgart 1971
60. IRVIN, T.T., NORMAN, J.N.
Hyperbaric oxygen in the treatment of infections
by aerobic microorganismus
Lancet 1 (1966), 392 - 394
61. JAWETZ, E., MEINICK, J.L., ADELBERG, E.A.
Medizinische Mikrobiologie
Springerverl. Berlin-Heidelberg-New York (1973)
62. JOYNER, A.L., SMITH, D.T.
Acute staphylococcus osteomyelitis
Surg. Gynec. and Obst. 63 (1936), 1 - 6
63. KAHN, D.S., PRITZKER, K.P.H.
The pathophysiology of Bone Infection
Chir. Orthop. 96 (1973), 12 - 19

64. KLEMM, K.

Zur Frage der Antibiotika-Anwendung bei posttraumatischer Osteomyelitis

Monatsschrift f. Unfallheilk. 75 (1972), 423 - 431

65. KUREK, M., PRYJAMA, K. et al

Antistaphylococcal Gamma hemolysin antibodies in rabbits with staphylococcal osteomyelitis

Med. Microbiol. Immunol. 163 (1977), 61 - 65

66. LAMERZ, R.

Radioimmunologische Bestimmung von Immunglobulin E

Klin. Wschr. 52 (1974), 18 - 23

67. LAMERZ, R.

Immunglobulin E. Biochemische und immunologische Eigenschaften und klinische Bedeutung

Klin. Wschr. 52 (1974), 1 - 15

68. LAURIC, B., LINHART, W.

Zur Frage der Serumbehandlung der akuten Osteomyelitis und anderen Staphylokokkenerkrankungen

Zbl. Chir. 49 (1940), 2296 - 2307

69. LEFEVRE, H., UECKER, W., BLÜMEL, P., RAETTIG, H.
Untersuchungen zur oralen Immunisierung. Die sekundäre
Immunreaktion nach primärer oraler und nachfolgender
oraler bzw. parenteraler Applikation von bovinem Serum-
albumin (BSA) beim Kaninchen.
Zbl. Bakt. I Orig A 213 (1970), 548 - 566
70. LEXER, E.
Pyogene Infektionen und ihre Behandlung
Neue Dtsch. Chir. 56, Enke Verlag, Stuttgart, (1936)
71. LIECHTI, R., WEBER, B.G.
Beitrag zur Prophylaxe der operativen Infektionen.
Unsere Erfahrungen nach 4-jähriger Durchführung
präventiver Impfung mit Staphylokokkenvaccine
Chir. 44 (1973), 269 - 272
72. LIETZ, B.
Orale Impfung mit inaktivierten Dyspepsie Coli-
Bakterien bei Mensch und Tier
Inaug. Diss. Berlin, 1969
73. LOB, G., SEIFERT, J., RING, J.
Osteomyelitis: Gute Ergebnisse durch Immuntherapie
Euromed, 15 (1975), 635

74. LOB, G., RING, J., SEIFERT, J.

Immunologische Reaktionen bei Patienten mit
chronischer posttraumatischer Osteomyelitis
Münch. Med. Wschr. 117 (1975), 417

75. LÖHR, W.

Die Behandlung der akuten und chronischen
Osteomyelitis des Röhrenknochen mit dem Leberträngips
Arch. klin.Chir. 180 (1934), 206

76. LODENKÄMPER, H.

Über das Problem der oralen Immunisierung
Klin. Med. Wschr. 114 (1964), 860

77. LODENKÄMPER, H., RÜHLICKE, U.

Anaerobier. Die Behandlung der sekundär chronischen
Osteomyelitis
Sonderdruck, Bücherei d. Orthop. 13, Enke Verlag,
Stuttgart 1974, 37 - 52

78. MAKAI, E.

Beeinflussung entzündlicher Prozesse durch subcutane
Einspritzung eigenen Eiters
Arch. Klin. Chir. 121 (1922), 33 - 40

79. MARWIK, G., SCHMUDDE, R.

Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen
Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 8. Mitt.:
Vergleichende Tierversuche zur Inhalationsimpfung
und zur nasalen, oralen und rectalen Schutzimpfung.
Zbl. Bakt. I Orig. 203 (1968), 26 - 37

80. MASKE, B.

Beitrag zur Impfstofftherapie bei osteomyelitischen
Prozessen
Dtsch. Militärarzt, Jg. 6, H. 11 (1941), 650 - 651

81. MATTI, H.

Über freie Transplantation von Knochenspongiosa
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 168 (1932), 236

82. MATUSIS, Z.E., SHUMILKINA, E.I.

Some responses of immunity and allergy in patients
with pseudarthroses of the leg and thigh, aggravated
by Staphylococcal osteomyelitis
Orthop. Traumatol. Protez. 34 (1973), 36 - 40

83. MOUCHET, M.

Discussion des rapports sur la séro- et vaccinothérapie
dans les affections ostéo-articulaires
30. Congr. franc. de chir., Strasbourg, 1921
Presse méd. 29 (1921), 807

84. NETER, E., MILGROM, F.
The immune system and infectious diseases
S. Karger, Basel 1975
85. O'DALY, J.A., CEBRA, J.J.
Chemical and physiochemical studies of the component
polypeptid chains of rabbit secretory IgA
Biochemistry 10 (1971), 3843 - 3850
86. OGRA, P.L., CHIBA, Y.
Vaccination by non-parenteral routes: Characteristics
of immune response
Develop. biol. Standard. 33, 19 - 26
S. Karger, Basel 1974
87. PAUL, D., BEYER, U., BEYER, L.
Häufigkeit und Folgen von Infektionen bei der
operativen Frakturenbehandlung
Zbl. Chir. 96 (1971), 1305 - 1319
88. PHILIPOWICZ, I.
Die blutige und unblutige Behandlung der akuten
und chronischen Osteomyelitis
Ergebn. Chir. u. Orthop. 28 (1935), 364 - 418

89. PICKET, J.

A short historical sketch of osteomyelitis

Ann. med. Hist. N.S. 7 (1935), 183

90. PLAUE, R., HINZ, P.

Osteomyelitis: Erregerspektrum und Resistenzsituation

Arch. Orthop. Unf. Chir. 69 (1970), 83 - 92

91. POPKIROV, S.

Osteoplastische Behandlung der Osteomyelitis mit

Heteroknochen aus der Knochenbank

Bruns Beitr. klin. Chir. 212 (1968)

92. QUENEAU, P., LEJAUNE, E.

Interet du dosage des antistaphylolysines an

pathologie ostéo-articulaire

Lyon Médical 228 (1972), 345 - 350

93. RAMON, G., RICHOU, R.

Dix années d'application de l'anatoxine staphylococcique

dla thérapeutique des affections dues au staphylocoque

en médecine humaine et en médecine vétérinaire

Rev. d'immunol. 10 (1946), 71

94. RAETTIG, H.

Grundlagen und Erfolge der oralen Impfung mit
inaktivierten Mikroorganismen

Ann. Sclavo 14 (1972), 505 - 525

95. RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen
Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 2. Mitt.:
Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei
der Enteritisinfektion der Maus

Zbl. Bakt. I Orig. 197 (1965), 368

96. RAETTIG, H.

Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit
inaktiviertem Antigen

Zbl. Bakt. I Orig. 182 (1961), 526

97. RING, J., SEIFERT, J., PROBST, J., BRENDDEL, W.

Chronische posttraumatische Osteomyelitis. 3. Immuno-
logische Aspekte

Fortschr. Med. 94 (1976), 211 - 214

98. RING, J., SEIFERT, J., PATZELT, U., LOB, G., PROBST, J.,
BRENDDEL, W.

Beurteilung von Schweregrad und Verlauf der chroni-
schen posttraumatischen Osteomyelitis

Arch. Orthop. Unfall-Chir. 85 (1976), 241 - 249

99. RING, J., SEIFERT, J., V.THIEL, D., LOB, G.,
PROBST, J.
Chronische posttraumatische Osteomyelitis
1. Klinik und Bakteriologie
Fortschr. Med. 94 (1976), 3 - 6
100. RING, J., SEIFERT, J., PROBST, J., BRENDL, W.,
V.THIEL, D., STICKL, H.
Humoral and cell-mediated immune reactions in the
clinical course of chronic osteomyelitis
Abstr. European Immunol. Meet. 77, Amsterdam (1975)
101. ROBINEAU
Discussion des rapports sur la séro- et
vaccinothérapie dans les affections osteoarticulaires
30. Congr. franc. de chir.
Presse méd. 29 (1921), 806 - 808
102. ROSSETINI, S.M.O., LEVANON, Y., RAETTIG, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikro-
organismen oder ihren Antigenen. 7. Mitt.: Nachweis
von Reaginen im Serum und in Dünndarmzellen oral
geimpfter Laboratoriumstiere
Zbl. Bakt. I Orig. 208 (1968), 16 - 26

103. SAILER, D., GRABNER, W., BERG, G.
Das quantitative Verhalten der Immunglobuline bei
chronischen Lebererkrankungen
Dtsch. med. Wschr. 98 (1973), 1559 - 1563
104. SEIFERT, J.
Enterale Resorption großmolekularer Proteine
bei Tieren und Menschen
Zschr. f. Ernähr.wissenschaft, Supplementum 18
(1974), 1 - 70
105. SEIFERT, J.
Chronische posttraumatische Osteomyelitis und
ihre Behandlung
Fortschr. Med. 95 (1977), 1376 - 1380
106. SLACK, W.K., THANAS, D.A.
Hyperbaric oxygenation in chronic osteomyelitis
Lancet 1 (1965), 1093 - 1094
107. SOEDER, H., WILLENEGGER, H.
II. Pyocyaneusinfektion c) Osteomyelitis
Hefte z. Unfallheilk. 114 (1973), 143 - 150

108. SOUTH, M.A., COOPER, M.D., WALTHER, F.A.
The IgA System. I. Studies of the transport and
immunochemistry of IgA in the saliva
J. Exp. Med. 123 (1966), 615 - 627
109. SPIESS, H.
Schutzimpfungen 2. Aufl.
G. Thieme Verl. Stuttgart 1966
110. SCHEIBNER, H.
Die Behandlung der chronischen Osteomyelitis ins-
besondere nach offenen Brüchen mit dem Serum Anti-
septon Ganslmayer
Zbl. Chir. 75 (1950), 169 - 177
111. SCHICK, F.
Die Ausheilung der Osteomyelitis durch spezifischen
Impfstoff
Der dtsh. Militärarzt 6 (1941), 640 - 650
112. SCHLEWINSKI, W., GRABEN, N. et al
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikro-
organismen oder ihren Antigenen. 13. Mitt.: Persorp-
tion und Sekretion von Mikroorganismen im Tierversuch
Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A 218 (1971), 93 - 104

113. SCHMIEDT-PLAUE

Ein Fall durch immunisiertes menschliches Serum
geheilter Staphylokokkensepsies

Arch. klin. Chir. 180 (1934), 106 - 107

114. SCHÜRCH, O.

Zur Behandlung der Osteomyelitis mit Fliegenmaden

Beitr. z. klin. Chir. 158 (1933), 613 - 622

115. SCHROEDER, S.A., CATINO, D.

Chronic pseudomonas osteomyelitis

Journ. Bone Joint Surg. 52 A (1970), 1611 - 1617

116. STICKL, H., HILLSTRUNG, H.W., GILLESBERGER, W.

Über eine immunologische Behandlung der Akne vulgaris

Münchn. Med. Wschr. 116 (1974), 49

117. STICKL, H. AUERSWALD, G.

Versuche zur Beeinflussung infektiös-allergischer
Prozesse durch orale Antigenezufuhr

Fortschr. Med. 93 (1975), 34

118. STRUPPLER, V., HEINRICH, G.

Beobachtungen und Ergebnisse bei der Vaccinebehandlung
der chronisch-eitrigen Osteomyelitis nach Schußbrüchen

Der Dtsch. Militärarzt 7 (1942), 691 - 703

119. TOMASI, T.B.

The selective occurrence of IgA-globulins in
certain body fluids

J. Chir. Invest. 42 (1963), 1552 - 1560

120. ÜBELHÖR, A.

Hat die Behandlung infizierter Knochen mit Sand
noch eine Bedeutung

Med. Welt 22 (1971), 457 - 459

121. UECKER, W., MEVES, M., RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen
Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 6. Mitt.:

Tierversuche zur Resorption und Sekretion von
radiomarkiertem bakteriellem Antigen

Zbl. Bakt. I Orig. 208 (1968), 2 - 15

122. VAERMAN, J.P.

Comparative immunochemistry of IgA

Res. Immunochem. Immunobiol. 3 (1973), 91 - 183

123. VESELOV, A.V., TROKHOVA, V.G.

Relationship between the severity and the duration
of the disease and the immunity indices in chronic
osteomyelitis

Vestn. Chir. 119 (1977), 100 - 102

124. VEYS, E.M., GABRIEL, P.A.
Humoral immunity in Osteomyelitis and infectious
arthritis
Acta Orthop. Belgica 41 (1975), 84 - 98
125. VOLKHEIMER, G.
Das Phänomen der Persorption von Stärkekörnern
Die Stärke 20 (1968), 117 - 126
126. WALDMAN, R.H.
Cell mediated immunity and the local immune system
In.: The immune system and infectious diseases,
Hg. v. NETER, E.
S. Karger, Basel 1975
127. WALDVOGEL, F.A.
A Review of clinical feature, therapeutic considerations
and unusual aspects
New Engl. J. Med. 282 (1970), 198 - 205
128. WARNATZ, H.
Der physiologische Immunstatus
Diagnostik 10 (1977), 450 - 452

129. WERNER, H.J., LEFÈVRE, H., RAETTIG, H.
Immune Response following oral immunization:
biphasic occurrence of IgM-forming cells in
the intestine
Nature 232 (1971), 119 - 120
130. WILLENEGGER, H., ROTH, W.
Die antibiotische Spüldrainage chirurgischer
Infektionen
Dtsch. Med. Wschr. 87 (1962), 1485
131. WILLIAMS, R.C.
Comparative studies of Immunglobulin opsonins in
osteomyelitis and other established infections
Immunology 17 (1969), 249
132. WITT, A.N.
Die operative Behandlung der Osteomyelitis
Verh. dtsch. Orthop. Ges. 100 (1965), 200

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel für die Möglichkeit der Bearbeitung des vorliegenden Themas bedanken.

Für die freundliche Überlassung der Arbeitsräume zur Durchführung der labortechnischen Arbeiten sowie der Impfstoffherstellung und -prüfung in der Bayerischen Landesimpfanstalt danke ich Herrn Professor Dr. med. H. Stickl sowie seiner Mitarbeiterin, Frau Dr. v. Thiel.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. med. Lob und Herrn Prof. Dr. med. Seifert aussprechen für die freundliche Betreuung und Unterstützung sowie für die hilfreiche Beratung bei der Ausarbeitung dieser Arbeit.

Für die Möglichkeit, Untersuchungen an Patienten der Unfallklinik Murnau vorzunehmen, danke ich Herrn Professor Dr. J. Probst.

Die vorliegende Arbeit wurde gefördert vom Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften.

LEBENS LAUF

Am 24.8.1952 wurde ich, Petra Urbach, geb. Graber, in Augsburg geboren.

Nach 4 Jahren Volksschule besuchte ich das Neusprachliche Gymnasium der Englischen Fräulein in Augsburg mit Abschluß der Hochschulreife 1971.

1971 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Universität München.

Vorphysikum 1972

Physikum 1974

1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1975

2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1977

Nach Ablauf des Praktischen Jahres 1977/78 erfolgte der

3. Teil der Ärztlichen Prüfung im September 78 mit Erhalt der Approbation im November 1978.

Seit Dezember 1978 bin ich im Städtischen Krankenhaus Schwabmünchen als Assistenzärztin für Chirurgie tätig.

Seit November 1978 bin ich verheiratet mit dem Arzt Dr. Georg Urbach.

